FLORA

ODER ALLGEMEINE BOTANISCHE ZEITUNG

HERAUSGEGEBEN VON

DR. O. RENNER

PROFESSOR AN DER UNIVERSITÄT JENA

NEUE FOLGE. 35. BAND

DER GANZEN REIHE 135. BAND

ZWEITES HEFT

MIT 17 ABBILDUNGEN IM TEXT UND 1 TAFEL

Nachlaß von Prof. N. Malta

JENA

VERLAG VON GUSTAV FISCHER

1941

Flora. N. F. Band 35	Heft 2	S. 101—238, Jena, 3. 7. 1941

Inhaltsverzeichnis.

Seite

STRUGGER, S., Zellphysiologische Studien mit Fluoreszenzindikatoren. I. Basische, zweifarbige Indikatoren. Mit 6 Abbildungen im Text 101—134

ROUSCHAL, ERNST, Untersuchungen über die Protoplasmatik und Funktion der Siebröhren. Mit 6 Abbildungen im Text und 1 Tafel 135—200

RENNER, O., Über die Entstehung homozygotischer Formen aus komplex-heterozygotischen Oenotheren. Mit 5 Abbildungen im Text . . 201—238

Die „Flora" erscheint zwanglos in einzeln berechneten Heften. Je 4 Hefte bilden einen Band, dessen Preis im laufenden Jahre 40 RM nicht überschreiten wird.

Manuskripte in deutscher Sprache, völlig druckfertig auf einseitig beschriebenen Blättern in Maschinenschrift, sind zu schicken an Prof. Dr. O. Renner, Jena, Botanisches Institut.

Verfassernamen sind gerade, lateinische Namen gewellt zu unterstreichen. Vorlagen zu Textabbildungen sollen nicht in den Text eingefügt werden, sondern sind gesondert beizugeben; die Texte zu den Abbildungen sind auf besonderem Blatt zusammenzustellen. Als Muster für die Art der Literaturzitierung gelten die Literaturlisten der letzten Bände der Flora.

Für den Druckbogen wird, bis zu der Höchstzahl von drei Bogen, ein Unkostenbeitrag von 30 RM gewährt, jedoch nicht bei Dissertationen. 40 Sonderabdrucke stehen unentgeltlich zur Verfügung, weitere Abzüge, höchstens 160, werden zum Selbstkostenpreis berechnet.

Verlag von Gustav Fischer in Jena *Neue Veröffentlichung*

Pflanzenforschung

Herausgegeben von Prof. Dr. **R. Kolkwitz,** Berlin-Dahlem

Heft 22:

Untersuchungen zur Ökologie der höheren Pilze

Von

Dr. **Karl Friedrich**

Pflanzenphysiologisches Institut der Universität Wien

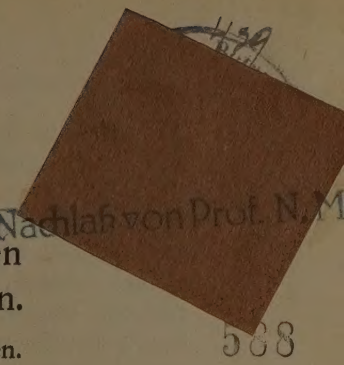
Mit 2 Abbildungen im Text

III, 53 S. gr.8° 1940 RM 3.—

Behandelt wird der Einfluß der klimatischen Faktoren wie Feuchtigkeit, Temperatur, Licht und Wind auf die Pilzvegetation, und von den edaphischen Faktoren sehr eingehend vor allem der Wassergehalt des Bodens. So ergibt sich als die wesentliche Gliederung der Arbeit

1. die Untersuchung der Wirkung der einzelnen Standortsfaktoren auf das Pilzgedeihen und
2. als Synthese daraus die Abhängigkeit bestimmter Pilzaspekte vom Gesamtklima.

Als 3. Abschnitt werden anhangweise auf Grund einer Herbstexkursion durch die Ötztaler Alpen Beobachtungen über Pilzvorkommen in verschiedenen Höhenlagen gebracht.


Nachlaß von Prof. N.M
568

Zellphysiologische Studien mit Fluoreszenzindikatoren.

I. Basische, zweifarbige Indikatoren.

Von **S. Strugger.**

(Aus dem Botanischen Institut der Tierärztlichen Hochschule und dem Lehrstuhl für Botanik der Technischen Hochschule Hannover.)

Mit 6 Abbildungen im Text.

Einleitung.

Indikatorfarbstoffe, welche im gewöhnlichen Lichte bei Änderung der Azidität Farbumschläge zeigen, werden vom Chemiker für kolorimetrische pH-Messungen und besonders für Titrationen angewandt. Auch für zellphysiologische Untersuchungen sind solche Farben mit vielfach wechselndem Erfolg herangezogen worden (Reiss 1926, Small 1929).

Schon im Jahre 1845 machte Herschel darauf aufmerksam, daß eine Änderung der Säurekonzentration auch eine Änderung der Fluoreszenzfarbe bestimmter Stoffe bewirken kann. Buckingham (1894) wies als erster auf eine enge Beziehung zwischen der Fluoreszenzintensität und der Dissoziation hin. Erst im Jahre 1926 haben Desha, Sherill und Harrison durch exakte Messungen den Beweis erbracht, daß bestimmte Fluorochrome im Zusammenhange mit der Wasserstoffionenkonzentration ihre Ionisation und damit ihre Fluoreszenzfarbe bzw. ihre Fluoreszenzintensität ändern. Wird die Fluoreszenzfarbe geändert, so sprechen wir von zweifarbigen, wird aber nur die Fluoreszenzintensität geändert, so bezeichnet man solche Stoffe als einfarbige Fluoreszenzindikatoren. Eisenbrandt (1929) konnte durch vergleichende Messungen der Dissoziationskonstanten auf fluorometrischem Wege diese Zusammenhänge noch weiter vertiefen.

Es besteht sonach zwischen den Hellfeldindikatoren und den Fluoreszenzindikatoren kein prinzipieller Unterschied. Da einerseits die Fluoreszenzfarbumschläge viel klarer zu beobachten sind als gewöhnliche Farbumschläge und andererseits sich der große Vorteil ergibt, auch Lösungen mit Eigenfarben titrieren zu können, werden die Fluoreszenz-

indikatoren in der analytischen Chemie häufig für Titrationen herangezogen. Die diesbezügliche Literatur ist bei Danckwortt (1940) einzusehen.

Für zellphysiologische Untersuchungen sind die Fluoreszenzindikatoren bisher noch nicht planmäßig herangezogen worden. Vereinzelte Hinweise finden sich in den Arbeiten von Strugger (1940 a u. b). Nachdem bereits hinreichende Erfahrungen über die Aufnahme und Speicherung fluoreszierender Stoffe durch lebendige Pflanzenzellen gewonnen werden konnten (Literatur bei Strugger 1940 a), lag es nahe, das Verhalten der Fluoreszenzindikatoren in der lebendigen Zelle zu prüfen. Gegenüber den gewöhnlichen Hellfeldindikatoren sind auch hier große Vorteile zu erwarten. Während die Hellfeldindikatoren erst dann in der lebendigen Zelle einen brauchbaren Farbeffekt liefern, wenn ihre Konzentration sehr groß ist, sind bei der Anwendung der Fluoreszenzindikatoren nur geringste intrazelluläre Konzentrationen nötig, um eine einwandfreie mikroskopische Beurteilung zu gestatten. Damit ist auch eine strenge Lokalisation des Indikators innerhalb bestimmter Zellelemente mit Leichtigkeit fluoreszenzmikroskopisch nachzuweisen. In diesem Zusammenhange muß noch auf die häufig starke Giftigkeit der Hellfeldindikatoren hingewiesen werden. Viele der brauchbarsten Hellfeldindikatoren sind auch schlecht durch die lebende Zelle aufnehmbar. Alle diese hinreichend bekannten Nachteile lassen sich durch die Anwendung der Fluoreszenzindikatoren leicht ausschließen.

Es ist das Ziel dieser Arbeit, das Verhalten mehrerer basischer, zweifarbiger Fluoreszenzindikatoren mit verschieden liegenden Umschlagsbereichen im lebendigen Zellmilieu mit Hilfe des Fluoreszenzmikroskopes zu untersuchen. Bei dieser Gelegenheit sollen die prinzipiellen Fragen der Anwendbarkeit basischer Indikatorfarben für protoplasmaphysiologische Analysen geprüft werden.

I. Benzoflavin (Herkunft: Behringwerke, I. G. Farben).

Im durchfallenden Lichte ist dieser Farbstoff in einer Konzentration 1 : 10000 grünlich-gelb. Seine Fluoreszenzfarbe ist in derselben Konzentration in aqua dest. gelöst stark laubgrün 23 pa[1]).

Wird die Farblösung mit Kalilauge versetzt, so ändert sich die

1) Um eine möglichst objektive Farbbeurteilung zu erzielen, die sich auch wissenschaftlich als wichtig erwiesen hat, benutzte ich zur Festlegung der Fluoreszenzfarben die kleine Farbmeßtafel nach Ostwald, Ausgabe A (zu beziehen von der Firma Phywe, Göttingen), welche sich für solche Zwecke auf das beste bewährt hat.

Fluoreszenzfarbe etwas nach Grün (seegrün) und ist mit 23ic identisch. Versetzt man sie mit Salzsäure, so tritt ein deutlicher Umschlag nach Gelb auf (laubgrün 24na). Es handelt sich sonach um einen zweifarbigen Fluoreszenzindikator. Sein Umschlagsbereich (UB) ist durch Jensen (1933) zwischen pH 0,3 und 1,7 festgelegt worden. Unter pH 1,7 liegt dieser kathodische Farbstoff in stark ionisierter Form vor. Die Farbkationen zeigen also eine gelbliche Fluoreszenz. Über pH 1,7 treten die Farbkationen stark zurück, so daß die Fluoreszenz der molekularen Farbstofflösung mehr nach Grün umschlägt.

Diese Verhältnisse habe ich auf zweierlei Weise geprüft:

1. Gepufferte Farblösungen 1:10000 (über die Herstellung der Pufferlösungen, welche in dieser Arbeit verwendet wurden, sind die Angaben von Strugger 1935b, 1938a und Drawert 1937b einzusehen) wurden mit Hilfe der Apparatur, welche Drawert und Strugger (1938) erstmalig für das Methylenblau anwandten, auf ihr kataphoretisches Verhalten im Gleichstromfelde untersucht. Die mit Leitungswasser getränkten Filterpapierelektroden wurden mit 90 Volt und 0,7 Milliampère verbunden und in die Lösungen eingetaucht. Nach 15 Minuten prüfte ich auf fluoreszenzoptischem Wege den Anstieg oder die Ansammlung des Farbstoffes an der Kathode. In pH 1,91 erfolgte kein deutlicher Anstieg mehr, wohl aber eine eindeutige Farbstoffansammlung an der Kathode. Erst bei pH 7 hörte auch diese allmählich schwächer werdende Ansammlung auf, und von da ab erwies sich im alkalischen Bereich das Benzoflavin als völlig undissoziiert.

2. In Übereinstimmung mit dem Vorgehen Drawerts (1938, 1939, 1940) wurde die Löslichkeit des Benzoflavins bei verschiedenen pH-Werten in neutralen und sauren organischen Lösungsmitteln durch Ausschütteln festgelegt. Mit Benzol ergaben sich folgende Tatsachen. Bis pH 4,5 war eine Ausschüttelung nicht möglich. Nur geringe Mengen des Farbstoffes gingen ins Benzol. Von pH 4,5 bis in den stark alkalischen Bereich hinein trat aber eine zunehmende und schließlich quantitative Löslichkeit des Farbstoffes im Benzol in Erscheinung. Die Ölsäure dagegen löste das Benzoflavin in allen pH-Stufen quantitativ (vgl. Drawert 1940).

Sowohl die Kataphoreseversuche, als auch die Ausschüttelungsexperimente zeigten, daß im sauren Bereich noch Farbkationen vorhanden sein müssen. Im alkalischen Bereich dagegen ist nur mehr die extrem lipophile molekulare Form des Benzoflavins zugegen.

Nach diesen Untersuchungen war es zu erwarten, daß das Benzoflavin als Fluoreszenzindikator wegen der tiefen Aziditätslage seines

UB für zellphysiologische Studien nicht brauchbar ist. Die Beobachtungen an vital gefärbten Zellen zeigten aber doch so bemerkenswerte Züge, daß ich im folgenden darüber kurz berichten möchte.

Alle Angaben beziehen sich auf eine Färbezeit von 5 Minuten. Die oberen Epidermen der Zwiebelschuppen von *Allium cepa* wurden in herkömmlicher Weise (Strugger 1935a) präpariert und nach der Färbung kurz im farblosen Puffer von demselben pH-Wert ausgewaschen und darin untersucht.

pH 1,99. Ein großer Teil der Zellen ist tot. Die überlebenden Zellen weisen eine unregelmäßige Durchtränkungsfärbung der Membranen in grünlichgelber Fluoreszenzfarbe auf. Das in seiner Konfiguration stark gestörte Protoplasma ist diffus grün gefärbt, aber auch einzelne Teilchen erscheinen stark hervorgehoben. Die Kerne fluoreszieren schwach diffus grün. Eine nähere Untersuchung lehrt, daß lediglich die Kernmembran als grünes Häutchen gefärbt ist. Der Zellsaft ist ungefärbt. Die toten Zellen weisen in der Regel eine schollige Degeneration des Zytoplasmas auf, welches dann orangegelb fluoresziert. Die Zellkerne sind kompakt durchgefärbt. Die Kernmembran fluoresziert ebenfalls orangegelb.

In pH 3,34 sind etwa 50% der Zellen überlebend. Infolge der Kationenadsorption fluoreszieren die Zellmembranen stark gelbgrün. Die Plasmafärbung ist etwas stärker aber sonst gleich wie in der vorigen Stufe. Eine Vakuolenkontraktion wurde häufig beobachtet. Bis pH 11,4 ist die Plasmafärbung dieselbe. Von pH 6,38 ab sind die Zellmembranen nicht mehr gefärbt. Der Prozentsatz der abgetöteten Zellen fällt mit zunehmendem pH-Wert parallel ab. In pH 6,38 waren bereits die meisten Zellen am Leben.

Es besteht wohl kein Zweifel, daß in dem pH-Bereich, in welchem das Benzoflavin noch Kationen führt, eine auffallende Giftigkeit des Farbstoffes zu beobachten war. Die Farbmoleküle dagegen erwiesen sich trotz ihrer stärkeren Speicherung im Protoplasma als schwächer giftig. Diese werden im Vergleich mit dem Benzolausschüttelungsversuch wohl vornehmlich in den neutralen Lipoidphasen der Zelle gespeichert, wo sich die Giftigkeit des Farbstoffes nicht auswirken kann. Liegen aber Farbkationen vor, welche das Eiweiß belegen, so tritt eine starke Giftwirkung in Erscheinung.

Plasmolyseversuche mit 1 Mol KNO_3 und KCNS zeigten deutlich, daß das Benzoflavin vornehmlich in den lipoiden Phasen des Protoplasten als Molekül gespeichert wird. Fig. 1 läßt die Farbstofflokalisation in den durch die Plasmolyse hervorgerufenen Myelinfiguren

deutlich erkennen. An den schön konvex plasmolysierten Plasmaleibern ist im Fluoreszenzmikroskop fernerhin eine deutliche, stark gelbgrün fluoreszierende Grenzschicht nach außen hin zu beobachten, welche nach meinen Erfahrungen (STRUGGER 1940a) als die lipoidhaltige äußere Plasmagrenzschicht (Plasmalemma) anzusprechen ist. In Fig. 1 ist diese Plasmalemmafärbung deutlich zu erkennen. Daß auch die Kernmembran lipoidhaltig ist, wird heute kaum bezweifelt (vgl. W. J. SCHMIDT, 1938, MONNÉ 1939). Auch diese färbt sich elektiv an. An Zellen, welche soweit geschädigt sind, daß in KNO_3 nur mehr eine Tonoplastenplasmolyse auftritt (STRUGGER 1931), ist eine elektive Färbung der ebenfalls lipoidführenden Tonoplastenhaut eindeutig zu beobachten (Fig. 2). Diese Feststellung ist eine gute Ergänzung zu den Befunden LEDERERS (1935a, b).

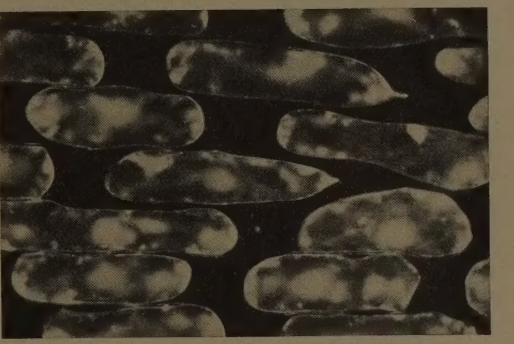


Fig. 1. Obere Epidermis der Zwiebelschuppe von *Allium cepa*. 5 Minuten lang mit Benzoflavin 1 : 10000 (pH 11) gefärbt, plasmolysiert mit 1 Mol KNO_3. Das Plasmalemma ist als scharf abgesetzte Grenzlinie sichtbar. Die Myelinfiguren an den Polen der Protoplasten sind stark gefärbt.

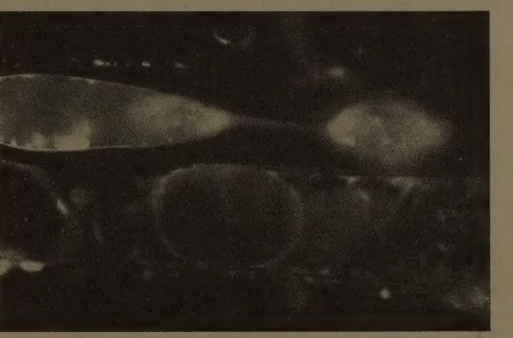


Fig. 2. Obere Epidermis der Zwiebelschuppe von *Allium cepa*. 5 Minuten lang mit Benzoflavin 1 : 10000 (pH 7,4) gefärbt, Plasmolyse mit 1 Mol KNO_3. Eine Zelle zeigt Tonoplastenplasmolyse. Die Tonoplastenhaut ist elektiv gefärbt.

Als Fluoreszenzindikator ist danach das Benzoflavin für zellphysiologische Zwecke völlig unbrauchbar. Seine Giftigkeit beruht in erster Linie auf einer direkten Kationenwirkung. In molekularer Form belegt es die lipoiden Plasmabestandteile und ist für elektive Färbungen der Myeline und der Plasmagrenzschichten ausgezeichnet zu verwenden.

II. Acridin (Herkunft: Präparat des Chemischen Institutes der Tierärztlichen Hochschule Hannover und Schering und Kahlbaum A. G.).

Der ringgeschlossene Chinonfarbstoff Acridin ist die wichtige Ausgangssubstanz zur Herstellung der zahlreichen Acridinfarbstoffe, zu denen alle in der vorliegenden Arbeit behandelten basischen Fluoreszenzindikatoren gehören. Seine Formel ist in Fig. 3 dargestellt. Es bildet weißliche nadelförmige Kristalle, welche in Wasser nur sehr schwer löslich sind. Da die Fluoreszenz selbst sehr verdünnter Lösungen überaus stark ist, konnte ich trotz der geringen Löslichkeit mit diesem interessanten Stoff experimentieren. Alle Versuche wurden mit kaltgesättigten Lösungen angestellt, so daß eine genaue Konzentrationsangabe nicht möglich ist.

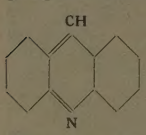


Fig. 3. Acridin.

Nach Volmar und Widder (1929) ist das Acridin ein basischer zweifarbiger Fluoreszenzindikator. Sein UB wurde von beiden Autoren zwischen pH 4,8 und 5,0 festgelegt. Unterhalb des UB fluoreszieren Acridinlösungen nach den Angaben dieser Forscher grün, oberhalb dagegen tief violett. Eigene Untersuchungen mit gepufferten Acridinlösungen konnten die oben angegebene Lage des UB durchaus bestätigen. Die Fluoreszenzfarbe habe ich nach Ostwald neu festgelegt, da die in der chemischen Literatur angegebenen Farbtöne sicherlich nicht zutreffen. Eine Acridinlösung vom pH-Wert 2—3 fluoresziert stark eisblau 18 pa. Eine solche vom pH-Wert 7—8 dagegen ultramarinblau 14 pa. Im UB treten entsprechende Mischfarben auf.

Eine pH-abgestufte Reihe von Acridinlösungen wurde mit Benzol ausgeschüttelt. Bis pH 3,5 war kein Übertritt aus dem Wasser ins Benzol fluoreszenzoptisch nachzuweisen. Demnach befinden sich in diesem Bereiche nur wenig undissoziierte Bestandteile in der Farblösung. Von pH 3,5—4 trat das Acridin in ultramarinblauer Fluoreszenz in geringer Menge ins Benzol über. Von pH 4,8 an dagegen war das Acridin im Benzol mit ultramarinblauer Fluoreszenz fast quantitativ löslich.

Daraus geht wohl eindeutig hervor, daß dieser Farbstoff bis zum UB stark ionisiert ist, und sonach die Farbkationen eisblau fluoreszieren. Dagegen weisen die Farbsalz- bzw. -basenmoleküle eine stark ultramarinblaue Fluoreszenz auf. Sie sind entsprechend der Lipophilie ihres Moleküls stark lipoidlöslich.

An den oberen Epidermen der Zwiebelschuppen von *Allium cepa* wurden mit gepufferten Acridinlösungen Färbungsversuche durchgeführt, deren Ergebnis im folgenden kurz dargestellt wird.

pH 2,02. Nach 10 Minuten Färbedauer (was für alle Untersuchungen gilt) ist lediglich in der Zellmembran eine schwache diffuse, eisblaue Fluoreszenz wahrzunehmen. Der Farbstoff imbibiert unterhalb des IEP (vgl. Strugger 1940 a) die Zellwände.

pH 4,8—5. In diesem Bereiche war in allen Versuchen eine sehr starke und prägnante Zellmembranfärbung nachzuweisen. Die Farbkationen werden oberhalb des IEP an der Zellmembran adsorbiert und bedingen die starke eisblaue Kationenfluoreszenz der gesamten Membransysteme. Im Zellinneren ist keinerlei Färbung wahrzunehmen.

pH 6,34. Dieser Puffer hat den UB bereits überschritten. Seine Eigenfluoreszenz ist ultramarinblau. Die Epidermiszellen der Zwiebelschuppen zeigen eine starke Farbstoffaufnahme in ihr Inneres. Der Farbstoff wird durch unverletzte Zellen lediglich primär in der Vakuole gespeichert. Die Zellsafträume fluoreszieren stark diffus eisblau. Die Zellmembranen zeigen noch eine schwache Kationenfärbung.

pH 7,46. Lediglich die Zellsafträume sind stärker diffus eisblau gefärbt. Die Membranen sind völlig ungefärbt, da offenbar im Farbbad keine Kationen mehr vorhanden sind.

pH 10—11,2. Sehr starke diffus eisblaue Zellsaftfärbung, häufig eine leichte Vakuolenkontraktion wahrnehmbar, Membranen völlig ungefärbt. Bei gelegentlicher Wiederholung der Versuche mit Wintermaterial traten abweichende Verhältnisse auf. Nach dem Überschreiten des UB färbte sich in diesem Sonderfalle nicht der Zellsaft eisblau, sondern das Zytoplasma ultramarinblau an. Dies ist aber nur ein Ausnahmefall.

Diese Beobachtungen gelten lediglich für die ersten Beobachtungssekunden. Erfolgt eine längere, etwa 15 Sekunden dauernde UV-Bestrahlung, so ändert sich die Farbstoffverteilung in den Zellen mit Vakuolenfärbung außerordentlich schnell.

Das Acridin besitzt einen für zellphysiologische Studien wesentlich günstiger gelegenen UB. Die mitgeteilten Erfahrungen lehren, daß aus einem stark dissoziierten Farbbad lebende Zellen nicht in der Lage sind, den Farbstoff in ihr Inneres aufzunehmen. Lediglich die Zellmembranen speichern die Farbkationen auf elektroadsorptivem Wege. Erst wenn im Farbbad nach Überschreitung des UB Farbmoleküle in reicher Zahl zugegen sind, erfolgt eine starke Farbstoffspeicherung im Zellinhalt. Aufgenommen werden dabei sicherlich die undissoziierten Farbmoleküle. Diese werden primär nur in Ausnahmefällen im Protoplasma gespeichert. In der Regel ist die Konkurrenz des Zellsaftes wesentlich größer, so daß dieser die Farbmoleküle an sich reißt. Dabei gehen diese in die

ionisierte Form über. So kommt es, daß aus einem blau fluoreszierenden Farbbade die Zellsafträume eisblau fluoreszierend hervorgehen. Dieser Farbwechsel kann zweierlei Ursachen haben. Entweder ist die Aziditätslage in den hydroiden Phasen des Zellsaftes tiefer gelegen als bei pH 5, oder es werden die Farbmoleküle auf dem Wege der Lösungsaffinität gespeichert, wobei es sich nicht um neutrale, sondern um saure Lipoide (Fettsäuren) handelt. Mir scheint auf Grund unserer bisherigen Kenntnisse über die Alliumzelle die letztere Möglichkeit eher vorzuliegen. Eine exakte Entscheidung über den pH-Wert der wässrigen Phase im Zellsaft ist wohl auf dem Wege der Fluoreszenzkolorimetrie mit Acridin ebenso unmöglich wie mit Hilfe der herkömmlichen basischen Indikatorfarbstoffe.

Von großem Interesse sind dagegen die durch sehr kurze UV-Bestrahlung hervorgerufenen Farbstoffumlagerungen, welche sekundär in allen Versuchen auftraten, in denen der Zellsaftraum primär gefärbt war. Im Gegensatze dazu ist die Kationenfärbung der Zellmembranen unterhalb des UB völlig strahlenunempfindlich. Bestrahlt man unter dem Fluoreszenzmikroskop (kleine Apparatur für durchfallendes Licht von Zeiss mit Quecksilberdampf-Mikroskopierlampe, Aluminiumspiegel, Quarzkondensor, gewöhnliche Objektträger und Uvetfilter) vakuolengefärbte Zellen 10—15 Sekunden lang, so kann man ein rasches Verschwinden der eisblauen Zellsaftfärbung beobachten. Gleichzeitig wird der Farbstoff in das Zytoplasma und in die Zellkerne in ultramarinblauer Fluoreszenzfarbe eingelagert. Sehr auffallend ist nach längerer Bestrahlung (etwa 1 Minute) das Auftreten kleiner, einzeln oder in Gruppen liegender Gebilde, welche eine gleißende eisblaue Fluoreszenzfärbung annehmen. Eine einwandfreie zytologische Identifizierung dieser Gebilde ist mir leider nicht gelungen. Damit sind die sekundären intravitalen Änderungen der Farbstoffverteilung, hervorgerufen durch UV-Bestrahlung, abgeschlossen.

Im Laufe dieser Bestrahlungsversuche stellte es sich heraus, daß nach Aufhebung der Strahlenwirkung innerhalb einer gewissen Zeit eine Reversibilität dieser Erscheinung beobachtet werden konnte. Mit Hilfe des Kreuztisches habe ich aufeinanderfolgende Stellen solange bestrahlt (etwa 15 Sekunden), bis die Reaktion deutlich sichtbar eintrat. Auf diese Weise sollte eine Straße mit Hilfe der UV-Strahlung durch das Epidermispräparat gezogen werden. Nach Beendigung der Bestrahlung (5—6 Minuten) war von der „eingebrannten Straße“ kaum etwas zu sehen. Der primäre Färbungszustand stellte sich nach dieser Zeit wieder ein. Durch geeignete Bestrahlungsversuche konnte in diesem

Zusammenhange gezeigt werden, daß die Erholungszeit um so länger sein muß, je länger die betreffenden Zellen bestrahlt wurden.

Es bestehen, rein theoretisch gesehen, zwei Möglichkeiten zur Erklärung der UV-Wirkung. Entweder ändert sich der Farbstoff selbst, oder es wird primär der Chemismus der Zelle reversibel geändert. Ein einfaches Experiment reichte aus, um diese Frage prinzipiell zu klären.

Ich bestrahlte ungefärbte lebende Epidermen an einer bestimmten Stelle mit Hilfe des Fluoreszenzmikroskopes eine Minute lang mit UV. Dann wurde in einer Acridinlösung pH 10,21 3 Minuten lang gefärbt. Während die unbestrahlten Kontrollstellen des Präparates eine eisblaue Vakuolenfärbung annahmen, zeigten die bestrahlten Stellen eine schwächere Vakuolenfärbung und eine ultramarinblaue Plasmafärbung. Damit ist wohl bewiesen, daß die eigenartige reversible UV-Strahlenwirkung in einer Änderung des Chemismus der Zelle ihre Ursache haben muß. Machen wir die Annahme, daß das Acridin in den freien Fettsäuren des Zellsaftes eisblau gespeichert wird, so können wir die Möglichkeit erwägen, daß die sauren Lipoide des Zellsaftes infolge der Strahlenwirkung neutralisiert werden. Die Konkurrenz der Plasmalipoide würde größer werden, wodurch sich die Farbstoffumlagerung in das Plasma ohne weiteres verstehen ließe. Nach Aufhebung der Strahlenwirkung wird der Zustand der Zellsaftlipoide wieder normal, und der umgekehrte Fall tritt ein. Einen ähnlichen Vorgang konnte ich an *Allium cepa* auch mit Neutralrot beschreiben (Strugger 1940b). Hier liegt zum ersten Male der interessante Fall vor, daß die Stoffverteilung innerhalb einer Zelle durch kurzfristige Lichtbestrahlung geändert wird.

Ich verfolgte weiterhin die Frage, ob durch eine Änderung des pH-Wertes des ungefärbten Milieus eine Farbstoffverlagerung zu beobachten ist, ähnlich wie ich eine solche an neutralrotgefärbten Zellen (Strugger 1936) beschreiben konnte. Epidermen, welche 10 Minuten in einer Acridinlösung pH 11,1 gefärbt wurden, wiesen eine eisblaue Vakuolenfluoreszenz auf. Diese wurden dann 2 Stunden lang in einen farblosen Puffer vom pH-Wert 3,5 übertragen. Die fluoreszenzmikroskopische Prüfung ergab bei Sommerversuchen keine Änderung der Farbstoffverteilung. Der Zellsaft vermag also in diesen Fällen das Acridin so stark an sich zu binden, daß kein Farbstoff aus der Zelle herausdiffundieren kann. In Winterversuchsreihen dagegen trat der Farbstoff schon innerhalb einer Stunde aus dem Zellsafte aus und färbte infolge der Kationenadsorption die Membransysteme stark eisblau an.

Der umgekehrt angestellte Versuch hatte dagegen auch im Sommer vollen Erfolg. Die Membranfärbung verschwand im alkalischen farblosen Milieu vollständig und das Acridin wurde im Zellsaft eisblau gespeichert. Die Wiederholung dieses Versuches mit Wintermaterial zeigte abweichende Bilder. Hier färbte sich das Zytoplasma schwach eisblau an. Auf welche Ursachen diese Verschiedenheiten zurückzuführen sind, läßt sich vorläufig nicht entscheiden.

Für das Acridin ist abschließend zu bemerken, daß infolge seiner starken Lipophilie eine Anwendung für zellphysiologische kolorimetrische Untersuchungen nicht in Frage kommt. Für strahlenphysiologische Studien ist es ein wertvolles Hilfsmittel.

III. Acridinorange (Herkunft: Hollborn & S. Leipzig).

Das Acridinorange ist von mir bereits in einer besonderen Arbeit untersucht worden (Strugger 1940a). Sein UB liegt nach Jensen (1933) zwischen pH 8,4 und 10,4. Es schlägt von Grün nach Hellgelbgrün um.

Im lebenden Plasma konnte ich den Farbstoff niemals als hellgelbgrün fluoreszierendes Molekül erkennen. Das vitalgefärbte Protoplasma zeigte immer eine grüne Fluoreszenzfarbe. Die Tatsache einer Kationenadsorption im Plasma geht schon daraus hervor, daß es gelang, das negativ geladene Kerngerüst sowie die Chromosomen (Strugger 1941) vital anzufärben. Den Konzentrationseffekt (Strugger 1940a) kann man nur in ionisierten Lösungen beobachten. Da dieser auch in der Zelle zu beobachten war, so kann man mit Sicherheit annehmen, daß die Acridinorangefärbung durch elektroadsorptive Einlagerung in die Eiweißkomponenten des Zytoplasmas und der Zellkerne zustande kommt. Nachdem die Farbkationen hydrophil sind, also der Fehler einer Lösungsmetachromasie ausgeschlossen erscheint, so kann man daraus schließen, daß die Farbkationen in den Eiweißphasen des Protoplasmas beständig sind. Demnach muß der pH-Wert des Protoplasmas der Zwiebelzellen unter pH 8,4 liegen. Nur in vereinzelten Fällen kam es vor, daß im Zellsaftraum die grelle gelbgrüne Fluoreszenz der Farbmoleküle auftrat. Hier muß wohl eine Aziditätsverschiebung im Zellsaft vorgelegen haben. Normalerweise färbt sich auch der Zellsaft in der Farbe der Kationen an.

Das Acridinorange ist zum Zwecke der Einengung für kolorimetrische pH-Messungen im Zytoplasma bedingt geeignet.

IV. Pyronin (Herkunft: Hollborn & S. Leipzig).

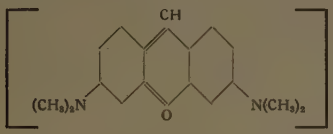


Fig. 4. Pyronin.

Das Pyronin gehört in die Gruppe der Xanthyliumsalze und ist ein ringgeschlossener Chinonfarbstoff (vgl. Fig. 4). Seine wäßrige Lösung besitzt eine tief rote Eigenfarbe. Der Farbstoff läßt sich sonach auch für Vitalfärbungsversuche bei Hellfeldbeobachtung heranziehen. Drawert (1940) hat wohl die ersten Beobachtungen über die Speicherung des Pyronins in den oberen Epidermiszellen der Zwiebelschuppe von *Allium cepa* mitgeteilt. Er fand, daß sich bis pH 10 die Zellmembranen anfärben, und daß bei pH 11,5 eine Zytoplasma- und Kernfärbung zu erkennen war. Auch Angaben über die physikalisch-chemischen Eigenschaften des Pyronins liegen bereits von Drawert vor.

Da Pyroninlösungen überaus stark fluoreszieren, hatte ich ursprünglich die Absicht, die Pyroninfärbung lebender Zellen mit Hilfe des Fluoreszenzmikroskopes näher zu analysieren. Bei dieser Gelegenheit fand ich, daß das Pyronin ein ganz vorzüglicher zweifarbiger Fluoreszenzindikator ist, was bisher in der chemischen Literatur unbekannt geblieben war. Während im gesamten schwach sauren und schwach alkalischen Bereich Pyroninlösungen 1:10000 eine stark gelbe Fluoreszenz zeigen, schlägt die Fluoreszenzfarbe im stark alkalischen Bereiche plötzlich in auffallender Weise nach Ultramarinblau um. Dieser Farbumschlag ist so kontrastreich, daß ich das Pyronin auch dem analytischen Chemiker zur Titration empfehlen kann. Zur groben Festlegung des UB stellte ich eine Reihe gepufferter Pyroninlösungen 1:10000 her und untersuchte sowohl ihre Eigenfarbe als auch ihre Fluoreszenzfarbe. Die Tab. 1 bringt das Ergebnis dieser Bestimmung und zeigt, daß der UB zwischen pH 7,5 und 11,2 gelegen sein muß. Bezüglich der Eigenfarbe und ihrer pH-Abhängigkeit konnte ich die Angaben Drawerts (1940) vollauf bestätigen. Erst im stark al-

pH	Eigenfarbe	Fluoreszenzfarbe
2,05	rot 8 na	gelb 2 na
3,43	rot 8 na	gelb 2 na
4,13	rot 8 na	gelb 2 na
6,27	rot 8 na	gelb 2 na
7,44	rot 8 na	gelb 2 na
7,56	rot 8 na	gelb 2 na
11,23	rot 9 ga	ultramarinblau 14 ia

Tab. 1.

kalischen Bereiche wird der Farbton blaß rosa. Die Änderung der Fluoreszenzfarbe im stärker alkalischen Bereiche von Gelb nach Ultramarinblau ist dagegen eine Neubeobachtung. Ich war daher gezwungen, den UB noch weiter einzuengen, zumal auch für den analytischen Chemiker eine solche Bestimmung für die Ausführung von Fluoreszenz-Titrationen von praktischer Bedeutung ist.

In Reagenzröhrchen wurden je 10 ccm einer wässrigen Pyroninlösung 1:20000 eingefüllt und mit steigenden Mengen einer 1/15 molaren tertiären Kaliumphosphatlösung versetzt. Nachdem innerhalb von 20 Minuten eine Konstanz der Fluoreszenzfarben erreicht war, wurde die Fluoreszenz der Lösung festgelegt. Im kritischen Bereich erfolgte dann die elektrometrische pH-Messung mit Hilfe der Wasserstoffelektrode. Die Tab. 2 gibt uns einen Ausschnitt aus diesen Untersuchungen. Es treten im kritischen Bereiche Übergangsfluoreszenzfarben auf, welche in der Regel veil sind. Gelegentlich konnte ich auch grünliche Übergangstöne bemerken. Eine wiederholte Bestimmung der UB ergab übereinstimmend, daß die Fluoreszenzfarbe des Pyronins zwischen pH 10 und pH 10,3 von Gelb nach Ultramarinblau umschlägt. Nach dem Überschreiten des UB flockt ein Teil der schwerer löslichen Farbbase aus, ähnlich wie es beim Neutralrot der Fall ist.

Zusatz ccm³ $^1/_{15}$ mol. tert. Kaliumphosphat	pH	Fluoreszenzfarbe nach 20 Minuten
0,1	7,74	gelb 2 na
0,2	10,06	veil 10 gc
0,3	10,31	ultramarinblau 14 na

Tab. 2.

Schon auf Grund dieser Beobachtungen kann man folgern, daß das Pyronin bis pH 10 ionisiert ist, und daß über pH 10 eine molekulare Lösung vorliegt. Demnach müßten die Farbkationen gelb, die Basenmoleküle ultramarinblau fluoreszieren. Die Veilfluoreszenz in der Übergangszone müßte wohl dem undissoziierten Farbsalz zukommen.

Um diese Verhältnisse näher kennen zu lernen, habe ich mit gepufferten Pyroninlösungen Kataphoreseversuche durchgeführt. Die Filterpapierelektroden wurden sowohl im gewöhnlichen Licht als auch im Ultraviolett beurteilt. Von pH 2 bis 8 ließ sich eindeutig eine gelb fluoreszierende Ansammlung verbunden mit einem leichten Anstieg an der Kathode beobachten. In pH 11,3 war weder eine Ansammlung noch ein Anstieg zu bemerken. Dies stimmt gut mit den Angaben Drawerts (1940) überein, der nur die Eigenfarbe berücksichtigte. Demnach ist das Pyronin im gesamten Bereich bis pH 8 stark dissoziiert. Über pH 10 ist dagegen die Dissoziation völlig zurückgedrängt.

In diesem Zusammenhange war es wichtig, Ausschüttelungsversuche in vitro mit pH-abgestuften Farblösungen vorzunehmen. Diese wurden mit mehreren neutralen organischen Lösungsmitteln durchgeführt (Benzol, Toluol, Chloroform und Terpentinöl). Da die Ergebnisse im wesentlichen übereinstimmten, bringe ich in Tab. 3 nur das Verhalten

pH	Benzol	Farbpufferlösung
2,00	ultramarinblau 14 pa + —	gelb 2 na + + + +
3,47	ultramarinblau 14 pa + —	gelb 2 na + + + +
4,99	ultramarinblau 14 pa +	gelb 2 na + + + +
7,52	ultramarinblau 14 pa + +	gelb 2 na + + + +
10,60	ultramarinblau 14 pa + + + +	ultramarinblau 15 ea +
11,40	ultramarinblau 14 pa + + + +	ultramarinblau 15 ea + —

Tab. 3.

der Pyroninlösungen gegenüber Benzol. Von pH 2—8 ist das Pyronin im Benzol entweder überhaupt nicht oder nur schwach löslich. Die Hauptmenge des Farbstoffes verbleibt in der wässrigen Phase und behält die gelbe Fluoreszenzfarbe bei. Der vom Benzol aufgenommene Farbstoff fluoresziert dagegen ultramarinblau, da nur Moleküle der Farbbase aufgenommen werden. Erst nach dem Überschreiten des UB (pH 10,3) tritt das Pyronin als ultramarinblau fluoreszierende Base fast quantitativ in das Benzol über.

Die Farbkationen zeigen sonach keine Lösungsaffinität zum Benzol. Sie sind also hydrophil bzw. lipophob. Die Basenmoleküle dagegen gehen rasch und begierig in das Benzol über. Gemäß ihrer Konstitution und Elektroneutralität sind sie stark hydrophob bzw. lipophil. In Bezug auf die Verteilungskoeffizienten ist also das Pyronin ein Indikator mit stark heterogenen Eigenschaften.

In diesem Zusammenhange ist es wichtig, einen Vergleich mit den von Drawert (1940) angestellten Ausschüttelungsexperimenten durchzuführen. Drawert beobachtete seine Farbreihen nur im gewöhnlichen Lichte. Da die Basenlösung in Benzol bzw. anderen organischen Lösungsmitteln farblos ist, mußte Drawert die starke Lipoidlöslichkeit der Farbbase im stark alkalischen Bereiche entgehen. Er schreibt auch, daß in Toluol das Pyronin im pH-Bereich 2—11,5 un-

löslich sei. Dagegen konnte er in Chloroform eine Löslichkeit von pH 8,5 bis 11,5 unter Farbverlust noch feststellen. Auf Grund der vorliegenden Untersuchungen ist das Protokoll Drawerts insofern richtigzustellen, als im Benzol und im Toluol die Pyroninbase von pH 10 ab quantitativ löslich ist und bei gewöhnlicher Beleuchtung eine farblose Lösung bildet. Unter der Quecksilberdampflampe ist aber eine sehr starke ultramarinblaue Fluoreszenz nachzuweisen.

Gegenüber Ölsäure verhält sich das Pyronin in gleicher Weise, wie es von Drawert (1940) allgemein für basische Farbstoffe angegeben wurde. Es geht auch im ionisierten Zustande fast quantitativ in die Ölsäure über.

1. Die Abhängigkeit der Pyroninaufnahme und -speicherung von der Wasserstoffionenkonzentration des Farbbades.

Mit gepufferten Pyroninlösungen 1:10 000 wurden nunmehr planmäßige Versuche an den oberen Epidermen der Zwiebelschuppe von *Allium cepa* angestellt, welche sich über den gesamten pH-Bereich erstreckten, der für biologische Untersuchungen in Frage kommt. In Tab. 4 ist das Ergebnis der fluoreszenz-mikroskopischen Analyse, in Tab. 5 das der Hellfeldanalyse nach 10 Minuten langer Färbung übersichtlich festgelegt. Alle Versuche wurden bei diffuser Beleuchtung und bei Zimmertemperatur angestellt.

Im pH-Bereich 2—2,5 fluoreszieren die Zellmembranen nur sehr schwach gelb. Ebenso sind das Zytoplasma, der Kern und der Zellsaft diffus gelb gefärbt.

Zwischen pH 3 und 3,5 tritt eine sehr auffallende Verstärkung der Membranfärbung auf. Auch die Kerne fluoreszieren etwas stärker gelb. Eine nähere Untersuchung der Kerne lehrt, daß in erster Linie das Karyotingerüst gefärbt ist. Eine Zellsaftfärbung tritt nur selten auf. Die starke, auch im Hellfelde nachweisbare Membranfärbung ist zweifellos elekrostatischer Natur, was schon aus der gelben Fluoreszenzfarbe eindeutig hervorgeht. Im Zusammenhange mit den Befunden von Drawert (1937, 1940) und Strugger (1940 a) wird der IEP der Zellmembranen in diesem pH-Bereiche überschritten, wodurch die Kationenadsorption der Zellmembranen verständlich wird. Diese elektrostatische Färbung muß in allen weiteren pH-Bereichen eintreten, in denen der Farbstoff noch dissoziiert ist. Das ist in der Tat bis pH 10 der Fall.

Fluoreszenzuntersuchung: Pyronin, Gesamtprotokoll; übereinstimmende Befunde nur einmal angeführt.

pH	Membran	Zytoplasma	Kern	Zellsaft	Strahlenwirkung
2—2,5	+ gelb	— + gelb	— + gelb K.-Gerüst	+ — gelb	keine
3—3,5	+ + + gelb	+ — gelb	+ gelb K.-Gerüst	—	keine
4—4,5	+ + + gelb	+ (—) gelb	+ (+) gelb K.-Gerüst	—	keine
4,5—5	+ + + gelb	+ (—) gelb	+ + gelb K.-Gerüst	—	keine
5—5,5	+ + + gelb	+ gelb	+ + gelb K.-Gerüst	—	keine
6—6,5	+ + + gelb	+ + gelb	+ + + gelb K.-Gerüst	—	keine
6,5—7	+ + + gelb	+ + gelb	+ + + gelb K.-Gerüst	— + gelb	keine
7—7,5	+ + + gelb	+ (+) gelb (bläulich)	+ + (+) gelb K.-Gerüst	+ gelb	keine
7,5—8	+ + + gelb	+ (+) gelb (bläulich)	+ + (+) gelb K.-Gerüst	+ — gelb	keine
8—8,5	+ + + gelb	+ gelb (bläulich)	+ + gelb K.-Gerüst	—	keine
8,5—9	+ + gelb	Mischfluoreszenz blau-gelb + +	+ K.-Gerüst gelb	—	keine deutliche
9,5—10	+ + gelb	Mischfluoresz. blau-gelb + +	+ K.-Gerüst gelb	—	keine deutliche
10,5—11	—	(veil) ultramarinblau + + +	(veil) Kernmembran ultramarinblau + +	—	stark
11—11,5	—	ultramarinblau + + +	(veil) Kernmembran ultramarinblau + +	—	stark

— = ungefärbt. + — = sehr schwach gefärbt. + = schwach gefärbt.
+ + = stark gefärbt. + + + = sehr stark gefärbt.

Tab. 4.

Von pH 5 an bis pH 8 färbt sich das Zytoplasma und der Zellkern in gelber Fluoreszenzfarbe stärker. Die Konfiguration des Zytoplasmas bleibt erhalten, und auch die Plasmaströmung ist zu beobachten. Die Zytoplasmafärbung ist diffus, doch treten auch gefärbte kleinste Einschlüsse in Erscheinung. Im Zellkern ist immer das Kerngerüst stark gefärbt. Eine elektive Anfärbung der Kernmembran konnte

Hellfelduntersuchung: Pyronin.

pH	Membran	Zytoplasma	Kern	Zellsaft	Bemerkung
2—2,5	+ — rot	—	—	—	
3—3,5	+ + + rot	—	—	—	
4—4,5	+ + + rot	—	—	—	
5—5,5	+ + + rot	—	—	—	
6—6,5	+ + + rot	—	—	—	
6,5—7	+ + + rot	—	—	—	
7—7,5	+ + + rot	—	—	—	
7,5—8	+ + + rot	—	—	—	
8—8,5	+ + + rot	—	—	—	
8,5—9	+ + rot	—	—	—	
9,5—10	+ rot	—	—	—	
10,5—11	—	(sehr schwach rot)[1] —	— (sehr schwach rot)[1]	—	Kernfärbung sehr unregelmäßig, meist farblos
11—11,5	—	(sehr schwach rot)[1] —	— (sehr schwach rot)[1]	—	desgl.

1) Tritt nur gelegentlich auf.

Tab. 5.

nicht beobachtet werden. Der Zellsaft färbt sich nur gelegentlich diffus gelb und so schwach an, daß die Farbstoffspeicherung erst nach plasmolytischer Konzentrierung feststellbar war. Im Hellfelde ist von dieser Färbung nichts zu sehen, was auch mit den Angaben Drawerts (1940) übereinstimmt.

Es besteht sonach kein Zweifel, daß das Pyronin im schwach sauren und schwach alkalischen Bereiche durch das Zytoplasma und den Zellkern vital gespeichert wird. Durch die fluoreszenzmikroskopische Analyse läßt sich eine eindeutige Aussage über die Natur dieser Speicherung machen. Da die Fluoreszenzfarbe des Farbstoffes im Zytoplasma und im Zellkern eindeutig gelb ist, wird das Pyronin in diesem pH-Bereiche zweifellos als Kation gespeichert. Da die Farbkationen hydrophil bzw. lipophob sind, und da im Protoplasma als hydroide Phase lediglich das Eiweißmicellargerüst in Frage kommt, so können wir den Schluß ziehen, daß die Farbkationen an das Plasmaeiweiß elektroadsorptiv gebunden sind.

Zwischen pH 8 und pH 10 ergaben die Färbungsversuche im Zytoplasma häufig Mischfluoreszenzen zwischen Gelb und Blau. Die Kataphorese- und Ausschüttelungsversuche lehrten, daß Farblösungen

in diesem pH-Bereiche schon reichlich ausschüttelbare Basenmoleküle führen. Die auftretende Mischfluoreszenz dürfte wohl darin ihre Erklärung finden, daß neben der Kationenadsorption am Eiweiß auch die Plasmalipoide infolge der hohen Lösungsaffinität der Farbbase gleichzeitig gefärbt werden.

Prinzipiell ändert sich das Bild der Pyroninfärbung, wenn der UB mit den Pufferlösungen erreicht oder gar überschritten wird. Von pH 10 ab ist die Gelbfluoreszenz im Zytoplasma und im Kerngerüst vollständig verschwunden. Das Zytoplasma fluoresziert dann stark diffus ultramarinblau. Am Zellkern ist dann lediglich die Kernmembran als ultramarinblaue Linie zu beobachten. Die Zellmembranen und die Zellsafträume sind immer ungefärbt. Betrachtet man solche Zellen bei Hellfeldbeleuchtung, so ist abweichend von den Befunden Drawerts (1940) überhaupt keine Färbung zu beobachten.

Bei der häufig erfolgten Wiederholung solcher Färbungen kam mir gelegentlich Zwiebelmaterial in die Hände, welches bei Färbung mit der Pyroninbase keine ultramarinblaue, sondern eine veile Zytoplasmafluoreszenz ergab. Dabei kam es vor, daß entweder nur einzelne Zellen schachbrettartig veil erschienen, oder daß einzelne Zytoplasmabezirke einer Zelle veil, die übrigen Bezirke ultramarinblau waren. In solchen Zellen war auch der Kerninhalt veil gefärbt. Eine vergleichende Betrachtung dieser Präparate im Hellfeld lehrte, daß im Falle einer veilen Fluoreszenz von Zytoplasma und Zellkern auch die von Drawert (1940) beobachtete Rotfärbung der Kerne und des Zytoplasmas im Hellfelde sichtbar war. Ich betone aber, daß diese Modifikation der Basenfärbung keineswegs dem Normalfalle entspricht, sondern nur an abweichendem Zwiebelmaterial gelegentlich zu beobachten war. Über die Natur der veilen Fluoreszenz kann ich mich vorläufig nur dahin äußern, daß es sich höchstwahrscheinlich um das undissoziierte Farbsalz handelt.

Da in der Zelle das Pyronin nach Färbung im extrem alkalischen Bereich ebenso ultramarinblau fluoresziert, wie im Farbbad, so können wir daraus schließen, daß das Pyronin in diesem Falle sowohl im Zytoplasma als auch in der Kernmembran als Farbbasenmolekül gespeichert wird. Es besteht in diesem Falle auch kein Zweifel, daß durch die Zelle die molekulare Form des Farbstoffes aufgenommen wird. Die Basenmoleküle sind, wie oben gezeigt, stark hydrophob und lipophil. Sie weisen demnach keine Lösungsaffinität zu den hydroiden Eiweißsystemen im Plasma auf. Wohl aber zeigen sie parallel zu ihrem Verhalten in vitro eine starke Lösungsaffinität zu den neutralen Plasma-

lipoiden, welche die zweite Hauptphase des Plasmas darstellen. In Übereinstimmung mit den Befunden Struggers (1938) über die Rhodaminfärbung lebender Zellen sind also auch in diesem Falle alle lipoidführenden Bestandteile des Protoplasten angefärbt.

Zusammenfassend können wir sagen, daß der zweifarbige Fluoreszenzindikator Pyronin in der Form gespeichert wird, in welcher er der Zelle geboten wurde. In ionisierter Form geboten tritt eine Kationenadsorption in der Zellmembran, im Zytoplasma- und Kerneiweiß auf. In molekularer Form dagegen erfolgt eine Speicherung der Farbbasenmoleküle in denjenigen Zellorten, in denen neutrale Lipoide vorhanden sind (Zytoplasma, Kernmembran).

Die mitgeteilten Befunde entsprechen der primären strahlungsunbeeinflußten Färbung. Während die Kationenfärbung völlig UV-unempfindlich ist, ist die Basenfärbung des Zytoplasmas extrem strahlenempfindlich. Sie kann daher nur innerhalb der ersten Sekunden unter dem Fluoreszenzmikroskop in unveränderter Form beobachtet werden. Über den Ablauf der Strahlenbeeinflussung soll später berichtet werden (S. 128).

2. Die pH-Abhängigkeit der Pyroninfärbung von Zellen, welche kurze Zeit mit 70% Alkohol fixiert wurden.

Pischinger (1926, 1927) führte, von dem Gedanken ausgehend, daß der Alkohol lediglich eine Dehydratisierung bewirkt, nicht aber die elektrische Ladung beseitigt, in die experimentelle Zytologie das Verfahren ein, Zellen und Gewebe mit 70% Alkohol zu fixieren und dann mit pH-abgestuften Lösungen basischer und saurer Farbstoffe zu färben. In Beziehung zum IEP der einzelnen Zellbestandteile ergibt sich dann eine gesetzmäßige Reihenfolge der Färbung. Dieses Verfahren wurde dann von Naylor (1926) und Drawert (1937 a, b, c) mit Erfolg zur Analyse der elektroadsorptiv bedingten Färbungen an pflanzlichen Zellen angewandt.

Für die Beweisführung der oben ausgesprochenen Ansicht, daß das Pyronin in einem weiten pH-Bereich als Farbkation elektroadsorptiv gespeichert wird, erschien die Durchführung einer solchen Versuchsreihe wichtig.

Um die eventuell in Alkohol löslichen basenspeichernden Lipoide nicht vollkommen zu extrahieren, habe ich die Epidermen nur kurzfristig, 15 Minuten lang in 70% Äthylalkohol fixiert. Dann erfolgte eine kurze Auswaschung in dest. Wasser. Die Färbung wurde in gleicher Weise vorgenommen wie mit den lebenden Epidermen.

	Fluoreszenzuntersuchung			Hellfelduntersuchung		
pH	Membran	Zytoplasma	Kern	Membran	Zytoplasma	Kern
2,04	—	+ gelb	+ + gelb Gerüst	—	–	+ rot Gerüst
3,46	+ + + gelb	+ gelb	+ + + rotorange	+ + + rot	+ rot	+ rot
4,17	+ + + + rot-gelb	+ + + rot-gelb	+ + + rot-gelb	+ + + + rot	+ + + + rot	+ + + + rot
6,79	+ + + + rot-gelb	+ + + + rot-gelb	+ + + + rot-gelb	+ + + + rot	+ + + + rot	+ + + + rot
7,38	+ + + + rot-gelb	+ + + + rot-gelb	+ + + + rot-gelb	+ + + + rot	+ + + + rot	+ + + + rot
7,74	+ + + orange-gelb	+ + + + rot-gelb	+ + + + rot-gelb	+ + + + rot	+ + + + rot	+ + + + rot
11,28	—	ultramarin-blau + + +	Kerngerüst veil + +	—	—	—

Tab. 6.

Die nebenstehende Tab. 6 gibt uns einen Überblick über die Ergebnisse. Da die beim lebendigen Material hemmend wirkende Semipermeabilität der Protoplasten wegfällt, sind die Färbungen allgemein stärker. Infolgedessen traten häufig Überfärbungen auf, welche zur Fluoreszenzlöschung führten. In solchen Fällen konnte die Fluoreszenzfarbe leicht durch entsprechende Kurzfärbungen bestimmt werden.

Unterhalb des IEP der Zellmembranen (pH 2,04) ist keine Färbung der Membransysteme eingetreten. Nach dem Überschreiten ihres IEP tritt dagegen bis in den alkalischen Bereich hinein eine überaus starke Membranfärbung auf, welche auf Grund der gelben Fluoreszenzfarbe zweifellos auf einer Kationenadsorption beruht. Ebenso ist vom IEP des Zytoplasma- und Kerneiweißgerüstes ab eine starke elektroadsorptiv bedingte Zytoplasma- und Kernfärbung zu beobachten. Diese Färbungen von Membran und Protoplasten sind so stark, daß sie bei Hellfelduntersuchung als schöne zytologische Färbungen zu erkennen sind. Es dürfte sich lohnen, das Pyronin für zytologische Färbungen versuchsweise heranzuziehen. Oberhalb des UB dagegen ist auch beim alkoholfixierten Material die Farbkationenfluoreszenz völlig verschwunden. Lediglich das Zytoplasma und die Kernmembran ist in blauer Fluoreszenzfarbe zu erkennen. Auch hier dürften die Plasmalipoide die Farbbase speichern.

Es ergibt sich sonach aus den Versuchen mit alkoholfixierten Epidermen die überraschende Tatsache, daß prinzipiell die pH-Abhängig-

keit der Färbung in gleicher Weise in Erscheinung tritt wie bei Verwendung des lebenden Zellmaterials. Ist der Indikator im Farbbade ionisiert, so tritt an der Zellmembran, am Plasma und Kerneiweiß eine starke Kationenspeicherung auf. Liegt aber die Farbbase vor, so färben sich nur die lipoidführenden Plasmabestandteile ultramarinblau an.

Die elektrostatische Natur der Kationenfärbung an der Membran und am Eiweißgerüst des Zytoplasmas und des Kernes ist sonach hinreichend gesichert. Von Bedeutung ist die Tatsache, daß die speichernden Plasmalipoide durch eine 15 Minuten dauernde kalte Extraktion nicht entfernt werden. Die Alkoholfixation schließt sonach eine Färbung, welche auf der Lipoidlöslichkeit freier Farbbasen beruht, nicht immer aus.

3. Die Extraktion der Pyronin-speichernden Zytoplasmalipoide durch Kochen mit Alkohol.

Um die Beweiskette vollends zu schließen, habe ich systematisch Extraktionsversuche mit nachfolgender Pyroninbasenfärbung durchgeführt. Es sollten die speichernden Lipoide so vollkommen wie nur möglich aus dem Protoplasten herausgelöst werden.

Zunächst habe ich mit gebräuchlichen Lipoidlösungsmitteln Extraktionsversuche bei Zimmertemperatur durchgeführt. Lebende Epidermishäutchen wurden in 96% Äthylalkohol, Äther und Petroläther eingelegt. Nach 3 Tagen wurden die Epidermen ausgewaschen und in einer Pyroninbasenlösung (pH 11,32) 15 Minuten lang gefärbt. Um für den nicht extrahierten Zustand ein Vergleichsmaterial als Kontrolle zu haben, wurden Epidermishäutchen derselben Schuppe in n/1 Salzsäure 5 Minuten lang abgetötet, in dest. Wasser gut ausgewaschen und ebenfalls mit der Pyroninbase gefärbt. Diese Versuchsreihen brachten folgendes Ergebnis.

Kontrolle, abgetötet mit Salzsäure. Das Zytoplasma ist stark gefärbt und zeigt eine diffuse ultramarinblaue Fluoreszenz. Ebenso hebt sich die Kernmembran als blau fluoreszierende Linie deutlich ab.

Mit Petroläther behandelt. Die homogene Blaufluoreszenz im Plasma ist nicht mehr zu sehen. Dafür aber treten kleine und größere tropfige Gebilde im Zytoplasma auf, welche die Pyroninbase in blauer Fluoreszenzfarbe speichern. Die Kernmembran ist nicht mehr sichtbar.

Mit Äther behandelt. Es treten im Zytoplasma ebenso wie im Petroläther viele, stark gefärbte Gebilde auf.

Mit Äthylalkohol behandelt. Das Zytoplasma ist nur sehr schwach diffus ultramarinblau. Im Vergleich zur Kontrolle ist tatsächlich der

größte Teil der speichernden Lipoide herausgelöst. Auch die Kernmembran ist nicht mehr als gefärbtes Gebilde zu erkennen.

Färbt man die Epidermen dieser Versuchsreihe mit einer schwach sauren Pyroninlösung an, so ist die Kationenfärbung immer deutlich zu beobachten.

Aus diesen orientierenden Versuchen geht hervor, daß die lipoide Plasmakomponente, welche die Pyroninbase zu speichern vermag, am leichtesten in Alkohol extrahierbar ist.

Es war daher zu erwarten, daß eine Extraktion mit Äthylalkohol bei Kochtemperatur den besten Erfolg bringen kann.

Nunmehr habe ich Epidermishäutchen 1 Stunde lang in 96% Äthylalkohol ausgekocht, dann in dest. Wasser ausgewaschen und in einer Pyroninlösung (pH 11,58) 15 Minuten lang gefärbt. Als Kontrolle dienten wiederum Epidermen, welche mit Salzsäure abgetötet wurden. An zahlreichen Versuchs- und Kontrollhäutchen habe ich die Pyroninbasenfärbung vergleichend geprüft. Eindeutig ergab sich folgendes Bild:

Das Zytoplasma der alkoholextrahierten Epidermiszellen zeigte nur mehr eine überaus schwache, diffuse Blaufluoreszenz, welche sich ohne weiteres allein auf eine Imbibition der Zellen mit der sehr stark fluoreszierenden Farbbase zurückführen läßt. Als Speicherung ist diese Färbung keineswegs mehr zu bezeichnen. Eine blau fluoreszierende Kernmembran war niemals mehr zu beobachten. Die mit Säure vorbehandelten Kontrollen dagegen ergaben eine überaus starke diffuse Speicherung der Base im Zytoplasma. Ebenso ist die Kernmembran in allen Fällen stark ultramarinblau.

Damit ist es wohl bewiesen, daß die Färbung toter und lebender Zellen mit der Pyroninbase in erster Linie auf dem Gehalt des Zytoplasmas und der Kernmembran an einem Lipoid beruht, welches leicht alkohollöslich ist. Betrachtet man vom chemischen Standpunkt aus die Löslichkeitseigenschaften der in Frage kommenden Lipoide, so ist es sehr wahrscheinlich, daß es sich um das Lezithin handelt, welches im hohen Grade vor den anderen Lipoiden durch seine Alkohollöslichkeit ausgezeichnet ist.

4. Die Entmischung der pyroninspeichernden Zytoplasmalipoide.

Czapek (1919) hat eine bequeme Methode angegeben, um die im Zytoplasma und in anderen Zellbestandteilen emulsoid verteilten Lipoide so zu entmischen, daß sie in Form einzelner Tropfen mit Sudan III leicht nachzuweisen sind. Er empfiehlt dazu ein Gemisch von Amylen-

hydrat-Pyridin, in welchem Sudan III gelöst ist. Die Zellen werden einfach in dieses Gemisch eingelegt und nach 24 Stunden mikroskopisch untersucht.

Nachdem ich schon früher im Laboratorium mit dieser Methode Czapeks gute Erfahrungen sammeln konnte, schien mir jetzt der Augenblick günstig zu sein, das Verfahren Czapeks weiter auszubauen und in den Dienst der vorliegenden Problemstellung einzusetzen. Dabei wurde die Sudan III-Färbung einfach durch eine nachträgliche Anfärbung der entmischten Zytoplasmalipoide mit der Pyroninbase im stark alkalischen Bereich ersetzt.

Epidermen wurden in ein Gemisch von Amylenhydrat-Pyridin (5:1) eingelegt und 2 Tage darin liegen gelassen. Dann wurde gut mit dest. Wasser ausgewaschen und mit einer Pyroninlösung (pH 11,31) 15 Minuten lang gefärbt.

Die Untersuchung im Hellfelde ergab, daß in jeder Zelle regelmäßig ein oder mehrere Tropfen enthalten waren. Entweder waren diese Tropfen rund oder sie wiesen, wohl infolge der Einwirkung des wäßrigen Milieus, myelinartige Auswüchse auf. Die Untersuchung im Fluoreszenzmikroskop zeigte, daß die Pyroninbase lediglich durch diese Tropfen in stark ultramarinblauer Fluoreszenz gespeichert wurde. Sonst war keinerlei Färbung in den Zellen wahrnehmbar. Die Fig. 5 gibt mikrophotographisch die Pyroninbasenverteilung in solchen Zellen wieder. Eine Behandlung solcher Präparate mit Äthylalkohol ergab, daß die großen Tropfen innerhalb kurzer Zeit in Lösung gehen, daß also tatsächlich dieselbe Substanz entmischt ist, welche im vorhergehenden Abschnitt als speichernd angesehen wurde. Für die Lezithinnatur dieser entmischten Tropfen spricht die Tatsache, daß schon nach Wasserbehandlung Myelinfiguren sich entwickeln können. Mit KOH-Zusatz entstehen noch reichlicher solche Myeline (vgl. Fig. 6), so daß an der

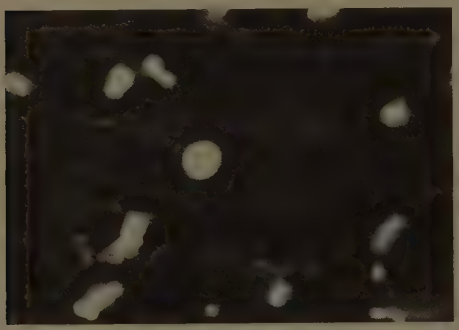


Fig. 5. Obere Epidermis der Zwiebelschuppe von *Allium cepa*. Die Zytoplasmalipoide sind durch längeres Liegen in einem Gemisch von Amylenhydrat-Pyridin in jeder Zelle zu großen Tropfen entmischt. Die Tropfen sind mit der Pyroninbase in ultramarinblauer Fluoreszenzfarbe elektiv färbbar.

Lipoidnatur der entmischten und basenspeichernden Tropfen nicht mehr zu zweifeln ist. Es ist sonach gelungen, die pyroninspeichernde Lipoidphase aus dem Zytoplasma vollkommen zu entmischen und in Tropfenform mikroskopisch sichtbar zu machen.

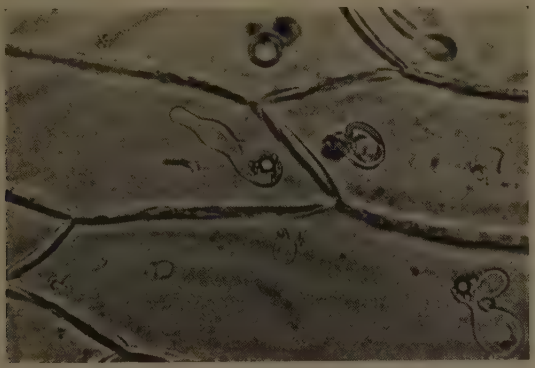


Fig. 6. Obere Epidermis der Zwiebelschuppe von *Allium cepa*. Durch ein Gemisch von Amylenhydrat-Pyridin sind die Zytoplasmalipoide zu großen Tropfen entmischt worden. Nach Zusatz von Kalilauge entstehen schöne Myelinfiguren. Hellfeldaufnahme.

Mit diesen Versuchen scheint mir die Farbbasenfärbung lebender und toter Zellen durch das Pyronin hinreichend geklärt zu sein.

5. Das Gelatine-Benzol-Modell.

Das Protoplasma wird allgemein als ein Kolloidkomplex angesehen, der aus zwei Hauptphasenkomplexen besteht. Das Eiweißmicellargerüst tritt wohl nach Frey-Wyssling (1938) als strukturbildende Phase auf, welche zweifellos hydroiden Charakter besitzt. Andererseits bilden die Lipoide den zweiten Phasenkomplex, der an der Bildung der Grenzschichten und an der Entstehung des Feingefüges maßgeblich beteiligt ist.

Die vorliegenden Färbungsversuche erlaubten es, den Speicherungsmechanismus ein und desselben Farbstoffes je nach seinem Dissoziationsgrad in seinem Schwergewicht das eine Mal auf den Eiweißkomplex, das andere Mal auf den Lipoidkomplex zu verlegen. Es lag nahe, diese Verhältnisse, wie sie im Protoplasma vorliegen, künstlich in Form eines Modelles nachzuahmen und an solchen Modellen die Pyroninfärbung in ihrer Beziehung zum pH-Wert des Farbbades fluoreszenzmikroskopisch zu untersuchen. Als Modell für die Plasmaeiweiße hat sich die Gelatine immer wieder als brauchbar erwiesen. Für die

neutralen Plasmalipoide genügt es, ein neutrales, hydrophobes Organicum zu verwenden. Da im Verlaufe der Untersuchungen sich verschiedene Organica als gleich brauchbar erwiesen haben, wurden die Hauptversuchsreihen mit Benzol als lipoidähnlicher Phase durchgeführt. Die Herstellung des Modelles erfolgte mit einer möglichst fluoreszenzarmen Gelatine (10%), welche knapp vor dem Erstarren mit Benzol durch Schütteln im Reagenzglas so vermischt wurde, daß eine mikroskopisch dimensionierte Gelatine-Benzol-Emulsion entstand. Auf 5 ccm Gelatinelösung kamen dabei 0,5 ccm Benzol. Dann wurde mit dem Fingerballen auf entfettete Objektträger ein dünner Tropfen dieser erstarrenden Emulsion so ausgebreitet, daß nach dem Erstarren jeder Objektträger eine flache, dünne Kuppe der erstarrten Emulsion trug. Diese Objektträger wurden dann in Färbetrögen mit gepufferten Farblösungen 1 Stunde lang gefärbt und nach dem Auswaschen in den entsprechenden farblosen Puffern unter dem Fluoreszenzmikroskop beobachtet. Tab. 7 gibt uns einen Überblick über die Färbungsergebnisse am Gelatine-Benzol-Modell.

pH	Benzol	Gelatine
2,05	—	+ gelb
3,43	—	+ gelb
4,13	— + ultramarinblau	+ + + + gelb
6,27	— + ultramarinblau	+ + + + gelb
7,56	+ ultramarinblau	+ + + + gelb
11,23	+ + + + ultramarinblau	—

Tab. 7.

Wie zu erwarten, trat am Modell dasselbe Ergebnis auf wie im lebenden und toten Zytoplasma. Solange das Pyronin dissoziiert ist, färbt sich elektroadsorptiv die Gelatine oberhalb ihres IEP in gelber Kationenfluoreszenz an. Wird der UB des Pyronins überschritten, so sind nur mehr die stark lipophilen Basenmoleküle zugegen, welche das Eiweiß nicht, wohl aber die Benzoltröpfchen in blauer Fluoreszenzfarbe zu färben vermögen. In ähnlicher Weise muß sich wohl der Vorgang bei der Anfärbung der Zellen abspielen.

6. Zur Theorie der Pyroninfärbung.

Für die theoretische Erfassung des oben mitgeteilten Tatsachenmaterials ist vor allem die Frage von großer Bedeutung, ob durch eine Behandlung lebender Zellen mit Puffern eine Änderung der Azi-

ditätslage in den hydroiden Phasen des lebenden Plasmas möglich ist. Diese Frage ist bis jetzt in der Literatur völlig unbeantwortet geblieben, da wir über die Ionenintrabilität des lebenden Zytoplasmas sehr wenig wissen. Mit Hilfe der Vitalfärbung mit Pyronin habe ich daher folgenden Versuch nach dieser Richtung unternommen.

Lebende Epidermiszellen wurden im schwach sauren Bereich pH 6,27 10 Minuten lang gefärbt. Sowohl die Zellmembranen als auch die Protoplasten zeigten eine deutliche gelbe Kationenfluoreszenz. Die gefärbten Zellen wurden dann in ein farbloses Puffergemisch vom pH-Wert 11,25 übertragen. Von 5 zu 5 Minuten wurden dieser Versuchsreihe Häutchen entnommen und fluoreszenzmikroskopisch auf ihre Färbung hin kontrolliert.

Theoretisch gesehen gibt es bei diesem Versuch drei Möglichkeiten:

1. Die Aziditätslage wird durch die Außenlösung im Zytoplasma überhaupt nicht nach der alkalischen Seite hin verschoben. Die Folge davon wäre das Erhaltenbleiben der Kationenfärbung im Zytoplasma.

2. Die Aziditätslage wird weitgehend nach der alkalischen Seite hin verschoben. Infolge der Alkalinisierung des gefärbten Eiweißmilieus müßte die Fluoreszenzfarbe des Pyronins umschlagen und es müßte die Kationenfärbung in die blaue Basenfärbung übergehen.

3. Die Aziditätslage im Zytoplasma wird nur beschränkt verschoben. Es würde also die Alkalinität in den Eiweißsystemen nicht so weit gesteigert werden (über pH 10), daß die Kationenfluoreszenz zum Verschwinden gebracht würde. Auch dann darf sich das Färbungsbild nicht verändern.

Mit Hilfe dieses Experimentes ist es also nur möglich, die Frage zu klären, ob Punkt 1 und 3 oder Punkt 2 zu Recht besteht. Selbst die Klärung dieser Frage ist für die Ausdeutung unserer Färbungsbefunde wichtig. Würde die intraplasmatische Aziditätslage jeweils der der Außenlösung angepaßt sein, so stände der Deutung des Vitalfärbungsergebnisses mit Pyronin keine ernstliche Schwierigkeit entgegen. Dann wäre eine vollkommene Parallele mit dem Gelatine-Benzol-Modell vorhanden. Sollte aber diese Voraussetzung nicht zutreffen, so muß eine andere Deutung gesucht werden.

Die Durchführung des Übertragungsversuches ergab folgendes:

Innerhalb der ersten 20 Minuten bleibt die Kationenfluoreszenz des Zytoplasmas auch im stark alkalischen Puffer vollständig erhalten. Erst nach 1 Stunde traten im Zusammenhange mit leichten Schädigungen (Vakuolenkontraktion) Veränderungen in der Fluoreszenzfarbe

des Zytoplasmas gelegentlich auf. Das Plasma nahm allmählich eine graublaue Basenfluoreszenz an. Es besteht sonach kein Zweifel, daß ein alkalischer Puffer als Außenlösung innerhalb der Färbezeit von 10 Minuten keineswegs die intraplasmatische Aziditätslage so weit verschieben kann, daß der Umschlagsbereich des Pyronins überschritten wird. Dieser Bereich wird erst nach längerer Pufferbehandlung infolge der Intrabilität der Zellen für die Puffersubstanzen überschritten, so daß im Zusammenhange mit nekrotischen Veränderungen tatsächlich die Kationenfluoreszenz verschwindet und in eine Basenfluoreszenz übergeht.

Derselbe Versuch wurde in umgekehrter Reihenfolge mit Zellen durchgeführt, welche zunächst mit der Pyroninbase ultramarinblau gefärbt wurden und dann in einen ungefärbten sauren Puffer übertragen wurden. In diesem Falle gelang es nicht, die Basenfärbung des Zytoplasmas in eine Kationenfärbung umzuwandeln.

Da also während der 10 Minuten langen Pyroninfärbung in der gepufferten Farblösung der pH-Wert des lebenden Zytoplasmas nicht hinreichend geändert werden kann, so muß die Ursache für das Auftreten der Kationenfärbung einerseits und der Basenfärbung andererseits anderweitig gesucht werden.

Für den Eintritt der Farbbasenlipoidfärbung im Zytoplasma liegen die Verhältnisse insofern klar, als nur Farbbasenmoleküle im Farbbad oberhalb des UB zur Verfügung stehen. Diese intrameieren in das Zytoplasma. Hier gibt es dann zwei Möglichkeiten:

1. Die Basenmoleküle treten durch die Poren der äußeren Plasmagrenzschicht zunächst in die hydroide Eiweißphase und werden dann durch die Lipoide gespeichert.

2. Die Basenmoleküle gehen infolge ihrer starken Lipophilie in den Lipoiden der äußeren Plasmagrenzschicht in Lösung und breiten sich im submikroskopischen Lipoidsystem des Zytoplasmas unabhängig vom Eiweißkomplex aus.

Ist Punkt 1 realisiert, so wäre es eigentlich zu erwarten, daß der Farbstoff innerhalb der hydroiden Eiweißphase (man bedenke die extrem alkalische Lage des Umschlagsbereiches) sofort dissoziiert wird und dann im Eiweiß als gelb fluoreszierendes Kation gespeichert wird. Es ist nicht anzunehmen, daß der pH-Wert innerhalb der lebendigen Eiweißsysteme über 10 liegt. Sonach ist die erste Möglichkeit wohl auszuschließen.

Die zweite Möglichkeit besitzt dagegen den größeren Wahrscheinlichkeitswert. Im Falle einer Diasolyse (vgl. Brintzinger und Beier

1937) der Farbbasenmoleküle muß es nicht sein, daß die Farbbasenmoleküle mit dem hydroiden Eiweißsystem in Berührung kommen. Dann ist, unabhängig von der Aziditätslage der Plasmaeiweiße, eine Lipoid-Farbbasenfärbung ohne entsprechende Aziditätsverschiebung möglich.

Wir kämen auf Grund solcher Erörterungen zu folgender Hypothese über das Zustandekommen der Pyroninfärbung:

Im schwach sauren Bereich, in welchem das Pyronin dissoziiert geboten wird, treten infolge Ionenaustausches Farbkationen in das Zytoplasma durch die Poren der Plasmagrenzschicht ein. Sie werden im lebendigen Eiweißgerüst des Zytoplasmas elektrostatisch adsorbiert.

Wird aber die lipophile Farbbase oberhalb des UB geboten, so ist die Mechanik der Aufnahme eine andere. Die Basenmoleküle lösen sich durch die lipoiden Oberflächen des Protoplasten durch, und es entsteht unabhängig von der Aziditätslage des Eiweißgerüstes die ultramarinblaue Lipoidfärbung.

Trifft diese Hypothese zu, so müssen wir bei der Anwendung von basischen Indikatorfarbstoffen damit rechnen, daß eine eindeutige pH-Bestimmung innerhalb der hydroiden Plasmasysteme sowohl theoretisch als auch technisch unmöglich ist. Schon allein die experimentell sichergestellte Tatsache der Lösungsmetachromasie basischer Indikatoren innerhalb der Zelle ist für die intravitale Kolorimetrie ein unüberwindliches Hindernis.

Als wesentliche Grundvoraussetzung für die Gültigkeit dieser vorgeschlagenen Arbeitshypothese muß die Möglichkeit des Eintrittes von Kationen durch die hydroiden Poren der äußeren Plasmagrenzschicht angenommen werden. Über das Intrameieren von Ionen wissen wir sehr wenig. Das liegt in erster Linie daran, daß die geeigneten Methoden zum Nachweis des Ioneneintrittes in das Zytoplasma fehlen. Nur die fluoreszenzmikroskopische Analyse gestattet uns einen Einblick in solche Vorgänge, da sie genügend empfindlich ist. Daß auch diesen Ergebnissen nur eine hypothetische Aussage folgen kann, darf uns nicht verwundern, sind doch selbst die Schlüsse, welche mit einer so altbewährten Methodik wie der Plasmometrie über die Mechanik der Permeation gemacht werden können, nicht weniger hypothetisch.

Es lohnt sich zur Frage der Ionenintrameation die Tab. 4 über die pH-Abhängigkeit der Pyroninaufnahme und Speicherung durch lebende Zellen heranzuziehen. Dort, wo der lebenden Zelle im Farbbade die Farbkationen geboten werden, ist auch eine gelbe Kationenfluoreszenz im Zytoplasma und im Zellkern eindeutig zu beobachten.

Auf einen ähnlichen Fall habe ich bereits in meiner Neutralrotarbeit (Strugger 1940b) hingewiesen. Dieser Zusammenhang ist kaum zufälliger Natur. Mit Hilfe der hochempfindlichen fluoreszenzmikroskopischen Analyse scheint mir in diesem Falle die Kationenaufnahme in das Protoplasma durch direkte Beobachtung erwiesen zu sein.

7. Die Wirkung des ultravioletten Lichtes auf vitalgefärbte Zellen.

Während der Beobachtung der Präparate mit dem Fluoreszenzmikroskop ist es unvermeidlich, daß die lebenden Zellen mit UV bestrahlt werden. Für die Eigenfluoreszenz der Chloroplasten ist ein Nachlassen der Fluoreszenzintensität nach UV-Bestrahlung allgemein bekannt. An neutralrotgefärbten Zellen habe ich (Strugger 1940b) auf eine UV-Wirkung hingewiesen, welche den Zustand des Neutralrotes im Zellsaft betrifft.

Die Kationenfärbung der lebenden Zellen im pH-Bereich 2—10 war völlig strahlenunempfindlich. Dagegen reagierten die im pH-Bereich über 10 ultramarinblau angefärbten Protoplasten sehr auffallend und mit großer Geschwindigkeit auf die UV-Bestrahlung unter dem Fluoreszenzmikroskop.

Im primären Färbungszustand ist das Zytoplasma diffus ultramarinblau. Nach einer Bestrahlungsdauer von wenigen Sekunden schlägt diese Fluoreszenz nach Veil um. Die Dauer der notwendigen Bestrahlung ist je nach dem physiologischen Zustande des Versuchsmaterials verschieden (2—20 Sekunden). Wird nach dem erfolgten Farbumschlag dieselbe Stelle des Präparates noch länger bestrahlt (2—10 Minuten), so geht die Veilfluoreszenz des Zytoplasmas allmählich in eine typische gelbe Kationenfluoreszenz über. Die ursprünglich blau gefärbte Kernmembran verfärbt sich ebenso, aber wesentlich langsamer. Nach längerer Bestrahlung geht die Veilfluoreszenz in der Kernmembran durch eine totale Entfärbung verloren. Der Kerninhalt, welcher ursprünglich keine Fluoreszenz erkennen ließ, wird in diesem Zusammenhange allmählich gefärbt. Das Kerngerüst fluoresziert zunächst veil und schließlich gelb. Die früher ungefärbte Zellmembran nimmt dabei langsam eine gelbe Kationenfärbung an, so daß nach ausgiebiger UV-Bestrahlung die ursprüngliche Basenfärbung in die Kationenfärbung übergeführt wird.

Von Bedeutung ist die Beobachtung, daß auch abgetötete basengefärbte Zellen (Tötung vor der Färbung mit 5% HCl oder kurzfristige Alkoholbehandlung) ebenso strahlenempfindlich sind wie die lebend-

gefärbten. Bestrahlt man eine Stelle solcher Präparate mit UV, so tritt auch hier innerhalb weniger Sekunden eine Änderung der Fluoreszenzfarbe im Zytoplasma auf. Der Farbumschlag geht aber nicht von Ultramarinblau nach Veil und Gelb, sondern er erfolgt direkt von Ultramarinblau nach einem starken hellen Gelbgrün. Infolge dieser Verschiedenheit der Fluoreszenzfarbänderung nach UV-Bestrahlung konnte ich tote oder geschädigte Zellen von den lebendigen sehr leicht unterscheiden.

Auf Grund unserer bisherigen Ergebnisse kann ich die beobachtete Erscheinung nur so verstehen, daß die ursprünglich in den Zytoplasmalipoiden gelöste ultramarinblau fluoreszierende Farbbase während der Bestrahlung mit UV in das veil fluoreszierende undissoziierte Farbsalz übergeführt wird. Dieses Farbsalz gelangt dann in die hydroiden Eiweißsysteme des Zytoplasmas, wird dort dissoziiert, und die Farbkationen werden schließlich im Eiweiß gespeichert. Über die Verschiedenheiten der Farbumschläge bei lebenden und toten Zellen läßt sich zunächst noch keine Aussage machen.

8. Die Wirkung des ultravioletten Lichtes auf basengefärbte Gelatine-Benzol-Modelle.

Die Gelatine-Benzol-Modelle stellte ich wie auf S. 124 beschrieben her. Ihre Färbung erfolgte mit Pyroninlösungen (um pH 11) eine Stunde lang. Hierauf wurde im farblosen Puffer vom selben pH-Wert ausgewaschen. Primär sind dann lediglich die Benzoltröpfchen stark ultramarinblau gefärbt. Werden solche gefärbte Modelle unter dem Fluoreszenzmikroskop 2—10 Sekunden lang bestrahlt, so ändert sich zunächst die blaue Fluoreszenzfarbe des Pyronins im Benzol nach Veil. Gleichzeitig ist ein überaus rascher Austritt des Farbstoffes aus den Benzoltropfen in die Gelatine zu beobachten. Dort fluoresziert das Pyronin hell grüngelb (also ähnlich wie an toten Zellen) und bildet um jeden Benzoltropfen einen deutlich fluoreszierenden Hof. Damit ist die Strahlenreaktion an basengefärbten Modellen abgeschlossen. Messungen der Geschwindigkeit dieses Vorganges zeigten, daß bei frisch hergestellter Gelatinelösung die Strahlenreaktion innnerhalb eines Zeitraumes von 10 Sekunden beendet ist. In manchen Fällen genügten schon Bestrahlungszeiten von 2 Sekunden. Verwendet man dagegen eine ältere Gelatinelösung, so tritt dieses Phänomen erst nach längerer Bestrahlungsdauer auf. Das Alter der verwendeten Gelatine ist also bei der Reproduktion solcher Versuche sehr zu beachten.

Außer mit dem System Benzol-Gelatine habe ich noch Versuche mit folgenden Systemen mit dem gleichen Erfolge angestellt: Toluol-Gelatine, Terpentinöl-Gelatine und Lezithin-Gelatine.

Von besonderem Interesse war die Beobachtung, daß die durch UV-Bestrahlung hervorgerufene Veränderung der Farbstoffverteilung nach einer bestimmten Erholungszeit im Dunkeln sich als völlig reversibel herausstellte. Am basengefärbten Toluol-Gelatine-System konnte durch eine geeignete Versuchsanstellung die Tatsache festgelegt werden, daß nach einer Dunkelpause von 10—20 Minuten der primäre Ausgangszustand der blauen Toluoltropfenfärbung wiederhergestellt wird.

9. Bemerkungen zur Strahlenwirkung.

Es besteht wohl kein Zweifel darüber, daß die Strahlenreaktion am Modell mit der an der Zelle identisch ist. Der Umschlag nach Veil, das Eintreten einer typischen Eiweißkationenfärbung sind völlig parallel laufende Symptome. Demnach bewirkt eine UV-Bestrahlung sowohl am Modell als auch in der Zelle eine Änderung der in der lipoiden Phase gelösten Farbbase zum undissoziierten Farbsalz, welches dann in der Farbe der Kationen in beiden Fällen im Eiweißsystem gespeichert wird. Der rasche Farbstoffaustritt aus dem Lipoidsystem läßt sich nur durch einen Speicherungsmechanismus verstehen. Für die Analyse physiologischer Strahlenwirkungen ergeben sich aus den vorliegenden Befunden folgende Ausblicke:

1. Es ist gelungen die Wirkung einer sehr kurzen UV-Bestrahlung auf das Zytoplasma sichtbar zu machen.

2. Dieser Strahleneffekt bewirkt eine beträchtliche Stoffverschiebung innerhalb der Plasmaphasen.

3. Da die Möglichkeit besteht, daß kurzdauernde Lichtreize auch in normalen lichtempfindlichen Zellen solche Stoffverschiebungen bewirken, ist damit zu rechnen, daß die Lichtreizperzeption beim reizphysiologischen Geschehen in ähnlicher Weise verlaufen könnte. Man könnte sich vorstellen, daß durch strahlungsbedingte Stoffverschiebungen von der lipoiden in die hydroide Phase des Zytoplasmas auch recht beträchtliche Veränderungen des Stoffwechselgeschehens innerhalb der Zelle hervorgerufen werden, wodurch die Reizkette in Gang gesetzt würde.

Weitere Analysen müssen zeigen, ob damit ein Ansatzpunkt für die Analyse der photischen Reizperzeption gegeben ist.

10. Versuche mit Acridinrot.

Dieser Farbstoff ergab dieselben Resultate, wie das Pyronin. Sein UB hat dieselbe Lage. Auch die Fluoreszenzfarben sind annähernd gleich.

Zusammenfassung der Ergebnisse.

1. Es wird erstmalig der Versuch unternommen, mit Fluoreszenzindikatoren Vitalfärbungen der oberen Epidermiszellen der Zwiebelschuppe von *Allium cepa* durchzuführen. Das Ziel dieser Versuche war die Prüfung der Anwendbarkeit dieser hochempfindlichen Fluoreszenzindikatoren für zellphysiologische Arbeiten.

Es wurden folgende zweifarbige, basische Indikatoren untersucht:
Benzoflavin, UB pH 0,3—1,7 gelb—grün
Acridin, UB pH 4,8—5,0 eisblau-ultramarinblau
Pyronin, UB pH 10—10,3 gelb-ultramarinblau und
Acridinrot, UB pH 10—11 gelb-ultramarinblau.

2. Das Benzoflavin ist infolge der tiefen Lage seines UB als Fluoreszenzindikator unbrauchbar. Seine molekulare Form ist sehr stark lipoidlöslich und färbt alle lipoidhaltigen Bestandteile des Protoplasten (Plasmalemma, Myelinfiguren und Kernmembran) sehr gut vital an. Die Giftigkeit des Benzoflavins nimmt mit zunehmender Ionisation beträchtlich zu.

3. Obzwar das Acridin einen sehr günstig gelegenen UB besitzt, war es doch nicht möglich, konkrete Aussagen über die Aziditätslage eines Zellbestandteiles zu machen. In seiner eisblau fluoreszierenden, ionisierten Form färbt es lediglich auf elektroadsorptivem Wege die Membransysteme oberhalb ihres IEP an. Als Molekül wird es in die Zelle aufgenommen und entweder vom Zellsaft oder gelegentlich vom Zytoplasma gespeichert. Im Zellsaft nimmt es die Fluoreszenzfarbe der Kationen an. Es ist nicht zu entscheiden gewesen, ob hier eine Dissoziation in der hydroiden Phase des Zellsaftes oder eine Lösungsmetachromasie in den Fettsäurekomponenten des Zellsaftes vorliegt. Die vakuolengefärbten Zellen sind äußerst UV-strahlenempfindlich. Innerhalb weniger Sekunden entfärben sich die Zellsafträume, und das Acridin wird infolge seiner starken Lipophilie im Zytoplasma in molekularer Form gespeichert. Diese Strahlenwirkung ist reversibel.

4. Das Pyronin und Acridinrot ergaben die bemerkenswertesten übereinstimmenden Resultate. Beide Farbstoffe sind als Fluoreszenzindikatoren erst bei der Ausarbeitung dieser Untersuchungen erkannt worden. Die Bestimmung des UB ergab, daß die Fluoreszenzfarbe zwischen pH 10 und 10,3 von Gelb nach Ultramarinblau umschlägt. Dem analytischen Chemiker kann besonders das Pyronin für fluorometrische Zwecke durchaus empfohlen werden. Die hydrophilen Farbkationen fluoreszieren gelb, während die stark lipophile Farbbase ultramarinblau leuchtet.

Von pH 2—10 ist das Pyronin dissoziiert. Über pH 10 befinden sich in der Lösung nur die Moleküle der Farbbase. Epidermiszellen der Zwiebelschuppe von *Allium cepa* wurden in azidimetrisch abgestuften Farblösungen vitalgefärbt. Es ergaben sich folgende Gesetzmäßigkeiten der Farbstoffaufnahme und Speicherung:

Unterhalb des IEP der Zellmembranen waren diese durch Imbibition nur schwach gelb gefärbt. Erst über pH 3 bis pH 10 fluoreszierten die Zellmembranen infolge der Kationenadsorption stark gelb. Von pH 4 — pH 8 war sowohl im Zytoplasma als auch im Kerngerüst eine gelbe Kationenfluoreszenzfärbung zu beobachten. Hier ist das hydroide Eiweißmicellargerüst vital gefärbt. Über pH 10 dagegen nahmen das Zytoplasma und die Kernmembran eine tief ultramarinblaue Fluoreszenz an (Basenfärbung). Zwischen pH 8 und pH 10 waren im Zytoplasma Mischfluoreszenzen zu sehen.

Werden die Epidermen 15 Minuten lang mit 70% Alkohol fixiert und mit pH-abgestuften Pyroninlösungen gefärbt, so war dasselbe Färbungsresultat zu beobachten. Infolge der Aufhebung der Semipermeabilität hat nur die Intensität der Kationenfärbung beträchtlich zugenommen. Es besteht sonach kein Zweifel, daß die Gelbfluoreszenz des Zytoplasmas und des Kerngerüstes auf einer Farbkationenadsorption beruht.

Zur Klärung der ultramarinblauen Basenfärbung des Zytoplasmas und der Kernmembran habe ich, von der Vermutung ausgehend, daß es sich um eine Löslichkeitsfärbung der neutralen Zytoplasmalipoide handelt, Extraktionsversuche durchgeführt. Durch Kochen der Zellen in Äthylalkohol gelang es, die speichernde Lipoidphase aus dem Zytoplasma und der Kernmembran völlig zu entfernen. Da von den in Frage kommenden Lipoiden sich das Lezithin durch seine besondere Alkohollöslichkeit auszeichnet, liegt die Vermutung nahe, daß das Lezithin die farbbasenspeichernde Phase im Zytoplasma darstellt.

Mit einem Gemisch von Amylenhydrat-Pyridin (Czapek 1919) war es möglich, die speichernden Zytoplasmalipoide zu größeren Tropfen zu entmischen, welche sich mit der stark lipoidlöslichen Farbbase ultramarinblau anfärbten. Es konnten Myelinbildungen an diesen Entmischungstropfen beobachtet werden.

Damit war auch die Natur der ultramarinblauen Basenfärbung geklärt.

Das Benzol-Gelatine-Modell zeigte dieselbe pH-Abhängigkeit der Pyroninfärbung wie die lebendige Zelle.

Durch geeignete Versuche konnte erwiesen werden, daß die intraplasmatische Aziditätslage durch die gepufferten Farblösungen während

der Färbungszeit nicht so tiefgreifend verändert wird, daß dadurch das Phänomen der Kationenfärbung einerseits und der Basenfärbung andererseits erklärt werden kann. Wir sind vielmehr gezwungen, die Annahme zu machen, daß die Kationenfärbung durch eine direkte Farbkationenaufnahme aus dem Farbbad in das Eiweißsystem des Protoplasten zustande kommt.

Die Tatsache der Lösungsmetachromasie in den lipoiden Systemen der Zelle verhindert die Anwendung basischer Fluoreszenzindikatoren für kolorimetrische Zwecke innerhalb der Zelle.

Lebende und tote Zellen, welche mit der Pyroninbase gefärbt wurden, sind gegen ultraviolette Strahlen außerordentlich empfindlich. Die Lipoid-Basenfärbung geht während der Bestrahlung in die Eiweißkationenfärbung über. Parallelversuche mit basengefärbten Benzol-Gelatine-Modellen zeigten diese Strahlenempfindlichkeit in gleicher Weise.

Es wird auf die mögliche Bedeutung solcher strahlenbedingter Stoffverschiebungen innerhalb der Plasmaphasen für die Analyse der Lichtreizperzeption hingewiesen.

Schriftenverzeichnis.

Brintzinger, H., u. H. Beier, Kautschuk, Gummi, Acetatzellulose, Nitrozellulose, Kunstharze und ähnliche Stoffe als Lösungsmittel I. Kolloidzeitschrift **79,** 318 (1937). — Buckingham, E., Über einige Fluoreszenzerscheinungen. Z. f. physik. Chem. **14,** 129 (1894). — Czapek, F., Zum Nachweis von Lipoiden in Pflanzenzellen. Ber. D. Bot. Ges. **37,** 212 (1919). — Danckwortt, P. W., Lumineszenzanalyse. 4. Aufl. Leipzig 1940. — Desha, L. I., R. Sherill u. L. Harrison, Fluorometrie. Die Beziehung zwischen Fluoreszenz und Wasserstoffionenkonzentration. J. Americ. chem. Soc. **48,** 1493 (1926). — Drawert, H., Untersuchungen über die pH-Abhängigkeit der Plastidenfärbung mit Säurefuchsin und Toluidinblau in fixierten pflanzlichen Zellen. Flora **31,** 341 (1937a). — Ders., Das Verhalten der einzelnen Zellbestandteile fixierter pflanzlicher Gewebe gegen saure und basische Farbstoffe bei verschiedener Wasserstoffionenkonzentration. Flora **32,** 91 (1937b). — Ders., Protoplasmatische Anatomie des fixierten Helodeablattes. Protoplasma **29,** 206 (1937c). — Ders., Über die Aufnahme und Speicherung von Prune pure durch die pflanzliche Zelle. Planta **29,** 179 (1938). — Ders., Zur Frage der Stoffaufnahme durch die lebende pflanzliche Zelle. I. Versuche mit Rhodaminen. Planta **29,** 376 (1939). — Ders., Zur Frage der Stoffaufnahme durch die lebende pflanzliche Zelle. II. Die Aufnahme basischer Farbstoffe und das Permeabilitätsproblem. Flora **134,** 159 (1940). — Ders. u. S. Strugger, Zur Frage der Methylenblauspeicherung in Pflanzenzellen. Ber. D. Bot. Ges. **56,** 43 (1938). — Eisenbrandt, J., Die Bestimmung von Dissoziationskonstanten fluoreszierender Stoffe durch quantitative Fluoreszenzmessungen. Z. f. physik. Chem. A. **144,** 441 (1929). — Jensen, K. A., Einige neue fluoreszierende Indikatoren. Z. f. anal. Chem. **94,** 177 (1933). — Kayser, Handbuch der Spektroskopie IV. — Lederer, B., Färbung, Fixierung und Mikrodissektion von Tonoplasten. Biol. Gen. **11,** 211 (1935a). — Dies., Färbungs-, Fixie-

rungs- und mikrochirurgische Studien an Spirogyra-Tonoplasten. Protoplasma **22,** 405 (1935b). — Monné, L., Polarisationsoptische Untersuchungen über die Kernmembran. Protoplasma **33,** 18 (1939). — Naylor, E., The hydrogen-ion concentration and the staining of sections of plant tissue. Amer. Journ. of Bot. **13,** 265 (1926). — Pischinger, A., Die Lage des isoelektrischen Punktes histologischer Elemente als Ursache ihrer verschiedenen H-Ionen-Konzentration. Arch. f. Zellf. u. mikr. Anat. **3,** 169 (1926). — Ders., Diffusibilität und Dispersität von Farbstoffen und ihre Beziehung zur Färbung bei verschiedenen pH. Ebenda **5,** 347 (1927). — Reiss, P., Le pH intérieur cellulaire. Paris 1926. — Schmidt, W. J., Über Doppelbrechung und Feinbau der Kernmembran. Protoplasma **32,** 193 (1938). — Small, J., Hydrogen-ion concentration in plant cells and tissues. Protoplasma-Monographien Band II. Berlin 1929. — Strugger, S., Zur Analyse der Vitalfärbung pflanzlicher Zellen mit Erythrosin. Ber. D. Bot. Ges. **49,** 453 (1931). — Ders., Praktikum der Zell- und Gewebephysiologie der Pflanze. Berlin (1935a). — Ders., Beiträge zur Gewebephysiologie der Wurzel. Protoplasma **24,** 108 (1935b). — Ders., Beiträge zur Analyse der Vitalfärbung pflanzlicher Zellen mit Neutralrot. Protoplasma **26,** 56 (1936). — Ders., Fluoreszenzmikroskopische Untersuchungen über die Speicherung und Wanderung des Fluoreszeinkaliums in pflanzlichen Geweben. Flora **132,** 253 (1938a). — Ders., Die Vitalfärbung des Protoplasmas mit Rhodamin B und 6 G. Protoplasma **30,** 85 (1938b). — Ders., Fluoreszenzmikroskopische Untersuchungen über die Aufnahme und Speicherung des Acridinorange durch lebende und tote Pflanzenzellen. Jenaische Zsch. f. Naturwiss. **73,** 97 (1940a). — Ders., Neues über die Vitalfärbung pflanzlicher Zellen mit Neutralrot. Protoplasma **34,** 601 (1940b). — Ders., Die Vitalfärbung der Chromosomen. Deutsche Tierärztl. Wochenschrift, Festschrift „Mießner". Nr. 51/52, 645 (1940). — Volmar, Y., u. E. Widder, Azidimetrie und Alkalimetrie in Gegenwart einiger fluoreszierender Indikatoren, speziell des Umbelliferons. Chim. et Ind. **21,** 160 (1929).

Untersuchungen über die Protoplasmatik und Funktion der Siebröhren[1]).

Von **Ernst Rouschal.**

Mit 6 Abbildungen im Text und 1 Tafel.

(Aus dem Botanischen Institut der Tierärztlichen Hochschule Hannover)

Inhaltsverzeichnis.

	Seite
Einleitung	135
I. Methode	137
II. Die plasmatischen Untersuchungen der Siebröhren	139
A. Versuche über die Plasmolysierbarkeit der Siebröhren von *Pinus silvestris* und *Picea pungens*	141
B. Versuche mit Laubbäumen	144
C. Versuche mit *Cucurbita pepo*	146
III. Zur Vitalfärbung der Siebröhren mit Neutralrot	155
IV. Die Leitung des Kaliumfluoreszeins in den Siebröhren	159
A. Die spezifische Leitfähigkeit des Phloëms für das Kaliumfluoreszein	161
a) Vorversuche mit *Pelargonium*	161
b) Hauptversuche mit Kürbis- und Baumsiebröhren	162
B. Die Wanderrichtung des Kaliumfluoreszeins in den Siebröhren	171
a) Die Polarität der Strömung	171
b) Die künstliche Umkehr der Strömungsrichtung	176
V. Nachsatz (Kritik der Arbeit von Döpp)	183
VI. Zusammenfassung und Schluß	186
Tabellarische Übersicht d. wichtigsten Befunde über die Siebröhrenfunktion	191
Schrifttum	197

Einleitung.

Über 80 Jahre ist es her, daß Th. Hartig (1858) den „Herbstsaft" der angeschnittenen Siebröhren entdeckte und daraus den Schluß zog, daß der absteigende Saftstrom eine Massenströmung wäre. Seine Entdeckung und die von J. Sachs (1863) entgegengesetzte Diffusionstheorie waren der Ausgangspunkt und Anstoß für alle weiteren experimentellen und theoretischen Untersuchungen über die Mechanik der Assimilatleitung (vgl. Huber 1937 a).

1) Habilitationsschrift der Tierärztlichen Hochschule Hannover.

Seit die Frage des Leitungsprinzipes durch die Arbeiten von Birch-Hirschfeld (1921), Dixon & Ball (1922) und Münch (1930) erneut angeschnitten wurde, wird das Interesse an diesem reizvollen physiologischen Problem immer lebhafter, so daß sich von Jahr zu Jahr die Beiträge mehr und mehr häufen. Auf die vollständige Wiedergabe der Literatur kann hier verzichtet werden, da sie in mehreren Sammelwerken und -referaten zugänglich ist (Münch 1930; Huber, Fortschr. d. Bot. 2, 5, 6, 7, 8; Rouschal, ebenda 9; Curtis 1935, Huber 1937 a, Esau 1939, Crafts 1939). Nachdem durch verschiedene Untersuchungen — ich nenne nur die originellen Befunde mit Miniermotten von Schneider-Orelli (1909), sowie die eleganten Operationsversuche von Schumacher (1931) — endgültig sichergestellt wurde, daß es einzig und allein die Siebröhren sind, denen die Fähigkeit zur raschen Assimilatleitung zuzuschreiben ist, steht weiterhin bis zum heutigen Tage die Grundfrage nach dem Prinzip der Leitung zur Diskussion. Wir wissen nämlich noch immer nicht sicher, ob die rasche Assimilatleitung, deren große Geschwindigkeit auf Grund der Trockengewichtszunahme von Früchten und Knollen sowie der Zuwachsgröße der Bäume gefordert werden muß, eine Massenströmung, d. h. eine Strömung der Stoffe mit dem Lösungsmittel, oder eine diffusionsartige Strömung, d. h. eine Stoffwanderung durch das Lösungsmittel ist (Huber 1937 a).

Mit Sicherheit konnten wir auf Grund der Stromstärken- und Geschwindigkeitsberechnungen bisher nur soviel sagen, daß das Leitprinzip sicher nicht die gewöhnliche Diffusion sein kann, da sie um das 1 000 000 fache zu langsam geht. Da aber durch Mangham (1917) sowie van den Honert (1932) die Möglichkeit einer Beschleunigung von Diffusionsprozessen durch Beschränkung der dreidimensionalen Molekülbewegung auf eine zweidimensionale, durch Oberflächenkräfte geförderte Spreitung an Grenzflächen aufgezeigt wurde, blieb weiterhin die Frage nach dem Leitprinzip ungelöst, zumal bald für die eine, bald für die andere Möglichkeit experimentelle Beweise veröffentlicht wurden. Ich verweise nur auf die wichtigsten Arbeiten von Mason und Mitarbeitern (1930—1936), Schumacher (1933, 1937), Curtis (1935), Palmquist (1938), Döpp (1939); andererseits auf die Befunde von Münch (1930), Crafts (1932—1939), Huber und Mitarbeitern (1937, 1938), Both (1937).

Es war mein Hauptziel, durch weitere Untersuchungen eine Klärung der Frage des Leitprinzipes herbeizuführen. Voraussetzung für die Erforschung der Funktion ist und bleibt natürlich, daß wir, abgesehen von den groben anatomischen Verhältnissen, auch die plasmatischen

Eigenheiten der Siebröhren genau kennen. Wie wir aber aus den Kontroversen jüngster Arbeiten (CRAFTS 1933, 1936, 1938, 1936; ABBÉ & CRAFTS 1939, HUBER & ROUSCHAL 1938, SCHUMACHER 1940) ersehen können, herrscht nicht einmal darüber Klarheit. Dies ist um so bemerkenswerter, als die Siebröhren im vorigen Jahrhundert ungemein häufig untersucht wurden, so daß sie SCHMIDT (1917) noch als die meist beachtete Zellgattung ansprechen konnte. Als Vorarbeit wurde demnach auch die Plasmaforschung der Siebröhren von mir weitergeführt. Besonderes Augenmerk wurde dabei der Plasmolysierbarkeit und damit der Permeabilität reifer Siebröhren geschenkt; daneben wurde auch die Vitalfärbung mit Neutralrot erneut untersucht.

I. Methode.

Die plasmatischen Untersuchungen wurden im Durchlicht wie im Auflicht vorgenommen. Als Lichtquelle diente die Sphaerolux-Mikroskopierlampe von Zeiss. Ich erwähne dies, weil für diese schwierigen Untersuchungen paralleles Licht besonders empfehlenswert ist. Ebenso erwies sich die Verwendung von Schottschen Farbfiltern (besonders Grünfilter!) zur Erzeugung annähernd monochromatischen Lichtes in vielen Fällen sehr vorteilhaft. Zur Auflichtuntersuchung stand mir ein Ultropak von Leitz durch die Unterstützung des Reichsforschungsrates zur Verfügung. Ich möchte dem Reichsforschungsrat auch an dieser Stelle für die Sachbeihilfe herzlich danken.

Die Untersuchung der Plasmolysen wurde in erster Linie an Radialschnitten durchgeführt, um die genaue Lokalisation der zur Beobachtung gelangenden Siebröhren und damit deren Reifegrad feststellen zu können. Die Beobachtungsschwierigkeiten waren dabei erheblich größer als an Tangentialschnitten. Letztere wurden daher zur Sicherung der Ergebnisse immer wieder mit herangezogen.

Plasmolytica waren vorwiegend Glyzerin und Traubenzucker, in speziellen Fällen $CaCl_2$, $AlCl_3$, KNO_3 und KCNS.

Die Neutralrotfärbung wurde im Hellfeld sowie im Fluoreszenzmikroskop studiert. Die Untersuchungen über die Stoffleitung der Siebröhren wurden dagegen ausschließlich mit dem Fluoreszenzmikroskop durchgeführt. Für die Fluoreszenzuntersuchungen stand mir das große Lumineszenzmikroskop von ZEISS mit Optik für durch- und auffallendes Licht zur Verfügung, das sich vortrefflich bewährte. Vor allem erlaubte die große Lichtstärke der Apparatur, ferner die Möglichkeit, rasch UV und Hellicht zu wechseln (wichtig für genaue Identifizierung der fluoreszierenden Elemente!), eine genaue Prüfung aller Einzelheiten.

Die Versuchspflanzen waren für die plasmatischen Untersuchungen: *Pinus silvestris*, *Picea pungens*, *Aesculus hippocastanum*, *Crataegus monogyna*, *Robinia pseudacacia* und *Cucurbita pepo*. Für die Untersuchung der Leitfunktion wurde zur Einübung SCHUMACHERS Hauptobjekt *Pelargonium*, zum eigentlichen Studium *Cucurbita pepo*, *Lagenaria sp.*, *Pinus silvestris* und *Picea pungens* verwendet.

Das Kaliumfluoreszein, mit dem die Leitversuche vorwiegend durchgeführt wurden, habe ich zunächst nach dem SCHUMACHERschen Muster an leicht ange-

schabten Stellen mittels Gelatine geboten. Bei den größeren Versuchspflanzen wie *Cucurbita* und speziell bei den Bäumen war die Methode — vor allem im Freiland — ungeeignet. Es wurden daher zwei neue Verfahren angewandt (Abb. 1 und 2). Bei

Abb. 1. „Dochtmethode". Das Kaliumfluoreszein in Röhrchen wird durch einen über den Sproß gelegten Wattestreifen an die angeschabte Epidermis herangebracht, ober- und unterhalb vom „Farbring" Vaselinringe zum Schutz gegen oberflächliches Verfließen entlang des Sprosses.

Abb. 2. Methode zur Anbringung d. Kaliumfluoreszeinlösung an der Rinde aufrechter Baumstämme mittels eines angeklebten Paraffintöpfchens. Ober- und unterhalb desselben Probeentnahmestellen (die tiefste 30—38 cm entfernt).

Cucurbita bewährte sich die in Abb. 1 wiedergegebene „Dochtmethode" besonders, die darin bestand, daß um die leicht angeschabte Epidermis ein Streifen Watte ringförmig herumgelegt und zur Fixierung mit den beiden Enden durch einen engen Glasring geschoben wurde, die dann frei in ein kleines Glasröhrchen reichten, das mit der wäßrigen Kaliumfluoreszeinlösung gefüllt war. Die Farblösung wurde kapillar stets hochgesogen, ein Vertrocknen kam so nicht vor. Zur Vermeidung einer oberflächlichen Ausbreitung des Farbstoffes, was sich beim Kürbis oft störend bemerkbar machte (Benetzbarkeit, Haare!), wurde ober- und unterhalb des Farbringes ein Ring vaselingetränkter Watte um den Sproß dicht angelegt.

Bei Bäumen wurde das Kaliumfluoreszein entsprechend Abb. 2 in einem, nach der Rinde hin offenen Paraffintöpfchen geboten, das mit vaselingetränkten Wattestreifen angeklebt wurde. Um das Eindringen durch das Rindenparenchym leichter zu gestalten, habe ich Borke und Rindenparenchym mit einem scharfen Messer möglichst ohne Druck bis auf eine 2—4 mm starke Schicht, die zum Schutze der Safthaut belassen wurde, weggeschnitten. Das gleiche Verfahren wurde auch ange-

wendet für Vorplasmolysen am Baumstamm, wobei an Stelle des Kaliumfluoreszeins im Paraffingefäß das Plasmolyticum trat.

II. Die plasmatischen Untersuchungen der Siebröhren.

Die hohe Empfindlichkeit der Siebröhren beim Herausschneiden aus dem Gewebeverband ist seit Beginn der Siebröhrenforschung bekannt. Es waren sogar sorgsamste Fixierungsmethoden nötig (vgl. A. Fischer 1884, Schmidt 1917, Huber & Rouschal 1938), um einigermaßen den natürlichen Zustand des Siebröhreninhaltes auch im Präparat wiederzufinden. Es ist deshalb nicht verwunderlich, wenn man nahezu in allen gangbaren Lehrbüchern und auf Wandtafeln die Siebröhren mit geschrumpften Protoplasten und verlagerten Eiweißmassen des Zellsaftes abgebildet findet.

Wie Crafts (1932, 1933, 1936, 1938, 1940), Huber & Rouschal (1938) und Abbé & Crafts (1939) berichten, ist die Empfindlichkeit der Siebröhren erst in einem gewissen Reifestadium gegeben. Vorher verhalten sie sich genau so wie gewöhnliche Parenchymzellen. So fehlt z. B. den Siebröhren der beiden inneren (Sommer-) Bänder der Saftthaut von *Robinia* noch im August jegliche Besonderheit[1]), während die der Frühjahrsbänder schon Mitte Juni nicht mehr ohne Schädigungen in den Schnitten gefunden werden konnten. Die auffälligste Tatsache ist, daß im Laufe der Entwicklung der Zellkern der Siebröhren zerfällt und schließlich ganz verschwindet. Da auch entgegengesetzte Befunde vorliegen (Schmidt 1917), habe ich die neuerlichen Befunde von Crafts (1933), Abbé & Crafts (1939) mit Hilfe der Feulgenschen Nuklealreaktion nachgeprüft. Es ist mir an reifen Baumsiebröhren und an solchen von *Cucurbita* nicht gelungen, einen Kern festzustellen. Dagegen ergab sich, daß die leichte Zerstörbarkeit der Siebröhren schon vor der Degeneration des Kernes eintritt, wovon ich mich bei *Robinia* überzeugte. Material vom 13. Juni 1940 wies in allen Siebröhren noch völlig intakte Kerne auf, die sich mit der schwefligsauren Fuchsinlösung schön herausfärben ließen. Die Frühjahrsbänder zeigten aber gleichzeitig die mir bereits von früheren Untersuchungen am gleichen Objekt (Huber & Rouschal) bekannten Verfallserscheinungen, wie Verlagerung des im natürlichen Zustande zentral aufgehängten Eiweißkörpers, Abhebung des Protoplasten von den Längswänden und lebhafte Brownsche Molekularbewegung der Mikrosomen usw. Wir

1) Ob das 3. und evtl. 4. Siebröhrenband von *Robinia* in unserem Klima überhaupt funktionstüchtig wird, ist nicht untersucht; ich möchte eher das Gegenteil glauben.

können daraus ersehen, daß die Entwicklung zur labilen, funktionstüchtigen Siebröhre nicht erst mit dem Kernverfall beginnt und daraus alle weiteren Veränderungen des Protoplasten abzuleiten wären, sondern daß schon mit der Durchbrechung der Siebporen und der Ausgestaltung des ursprünglich dicken, grobkörnigen Protoplasten zu einem hauchdünnen Wandbelag die Labilität auftritt. Immerhin werden wir dem nahezu einzig dastehenden[1]) Kernverlust neben der Umgestaltung des Protoplasten für die Ertüchtigung der Siebröhren zur Leitfunktion große Bedeutung beizumessen haben. Wenn Huber & Rouschal und Huber (1939a) auf Grund dieser Veränderungen und im Hinblick auf gewisse Entwicklungsparallelen bei den Gefäßen zur Ansicht kamen, daß der funktionstüchtige Zustand der Siebröhren durch eine degenerative Phase (prämortaler Zustand) des Plasmas charakterisiert ist, so scheint mir dies auch trotz der Einwände Schumachers (1940) weiterhin zu Recht zu bestehen.

Die protoplasmatische Entwicklung der Siebröhren von *Pinus strobus* haben Abbé und Crafts (1939) untersucht. Sie kommen zu den gleichen Ergebnissen, wie sie Crafts bereits früher für zahlreiche andere Pflanzen mitteilte. Inzwischen hat Huber gezeigt, daß bei den *Abietaceen* ein Teil intakter Siebröhren vom Vorjahr über den Winter hinweg erhalten bleibt und noch im nächsten Jahr funktionstüchtig ist. Ferner stellte Schumacher (1940) für *Abies bracteata* (sowie für zahlreiche andere Pflanzen) Plasmolysierbarkeit reifer Siebröhren fest. Wir haben 1938 selbst auch reife Siebröhren vom Kürbis plasmolysiert, hielten das aber eher für einen Sonderfall, da *Robinia* immer wieder negative Ergebnisse lieferte und damit dasselbe Verhalten wie die zahlreichen Objekte von Crafts zeigte. Da Schumachers Versuche mit Baumsiebröhren hauptsächlich im Frühjahr und Frühsommer angestellt wurden, also zu einem Zeitpunkt, wo wir noch gar nicht die volle Funktionstüchtigkeit erwarten können, schien es mir doch sehr geraten, die plasmolytischen Untersuchungen erneut aufzunehmen. So habe ich laufende Versuche vom Winter (Januar) bis zum nachfolgenden Herbst (Oktober) an den Siebröhren von *Pinus silvestris* und *Picea pungens* durchgeführt, um nochmals klar die Abhängigkeit der Plasmolysierbarkeit vom Entwicklungszustand der Siebröhren zu prüfen. Ebenso habe ich während der ganzen Vegetationsperiode die Siebröhren einiger Laubbäume, denen wir wohl die höchste Leistung

1) Kernverlust und Protoplasmaveränderungen weitestgehender Natur konnten Becker (1937) und Uhlela (1939) auch bei *Basidiobolus ranarum* finden (vgl. unten S. 154).

zusprechen müssen, geprüft. Wie sich herausstellte, war *Robinia*, unser Hauptobjekt von 1938, infolge seiner weiten Siebporen (vgl. HUBER 1939), trotz seiner sonst so wertvollen Eigenschaften (kurze Glieder, scharfe Trennung der reifen Frühjahrssiebröhren von den später entwickelten Sommerbändern durch Lagen kristallführender Parenchymzellen) ein äußerst ungünstiges Objekt für plasmatische Untersuchungen. Ich bevorzugte daher diesmal die Siebröhren von *Aesculus hippocastanum*, deren Gestalt mehr einem Durchschnittstyp derjenigen von Laubbäumen entspricht. Außerdem war die relativ mächtige Entwicklung der Saftbaut von *Aesculus* für die Untersuchungen besonders günstig.

A. Versuche über die Plasmolysierbarkeit der Siebröhren von *Pinus silvestris* und *Picea pungens*.

Versuche mit bereits gut ausdifferenzierten Siebröhren des Vorjahres von jungen Zweigen schienen selbst im Januar und Februar keinen Erfolg zu ergeben. Wieder waren nur die ganz jungen, mehr oder minder undifferenzierten Siebröhren und das Kambium plasmolysierbar. Als ich aber im März die weiteren Siebröhren der Stämme zur Untersuchung heranzog, die eine bedeutend bessere Beobachtungsmöglichkeit boten, gelang es, allerdings mit großer Mühe, an Radialschnitten die äußeren Siebröhren mit vollentwickelten Siebtüpfeln plasmolysiert zu finden.

Die Ursache der schweren Sichtbarkeit an Radialschnitten lag darin begründet, daß in den allermeisten Fällen die Konturen des abgehobenen Protoplasten zusammenfallen mit der Umrandung der Siebtüpfel, die an den Radialwänden liegen und — wie bei den anderen Siebröhren die quergestellten Siebplatten — negative Plasmolyseorte sind. Es ist daher nicht zu verwundern, wenn man die Plasmakonturen an der Abhebungsstelle nicht sicher erkennt. So mußte sich auch SCHUMACHER (1940) z. T. mit der Feststellung von Strömungserscheinungen in den Siebröhren als Plasmolysekriterium begnügen, obwohl dies nach meinen Erfahrungen nicht ganz statthaft ist, da derartige Bewegungen des Zellinhaltes auch beim Ausfließen beschädigter Siebröhren spontan und ruckweise auftreten können. Aufmerksam wurde ich auf die Plasmolysierbarkeit der reiferen Siebröhren, als ich ergänzend auch die übersichtlicheren Tangentialschnitte untersuchte. Stellte ich mehrere Tangentialschnitte her, indem ich von den peripheren, obliterierten Siebröhren gegen die jungen, kambiumnahen vordrang, so fanden sich immer wieder, auch in den alleräußersten Schnitten, prachtvolle Plasmolysebilder (Taf. III, Fig. 1, 2). Es schien, daß es sich dabei um die reifsten weitlumigen handelte.

Sicher war dies am Tangentialschnitt niemals festzustellen, weil die Beobachtung der Siebtüpfel Schwierigkeiten bereitete (sie waren im Querschnitt getroffen, außerdem mußten die Schnitte zur Lebenderhaltung der Siebröhren relativ dick sein.). Aber nachdem ich einmal auf die Tatsache an sich aufmerksam geworden war, gelang es nachher auch an den Radialschnitten in den peripheren, lebenden Siebröhrenlagen Plasmolysen zu entdecken. Ein weiterer Weg, solche schwierig sichtbare Plasmolysen festzustellen, war der, den Eintritt der Plasmolyse oder das Zurückgehen derselben bei Zusatz von hypotonischen Lösungen bzw. Wasser zu verfolgen. Einmal der Sache gewiß, konnte ich später immer wieder, besonders an den im Laufe des Frühjahrs und Frühsommers neu gebildeten Siebröhren mit ihrem größeren Lumen die Plasmolyse feststellen. Nun (Mai, Juni) war es auch nicht selten, daß bei Anwendung etwas stärker hypertonischer Lösungen (1,5 Mol Traubenzucker oder Glyzerin) schön konvexe, mehrfach unterteilte Plasmolysen am Radialschnitt sichtbar wurden. Ich gebe in Taf. III, Fig. 3 u. 4, die Verhältnisse wieder, wie ich sie noch bis zum Juni, ja, wenn auch nicht so einheitlich, bis Ende Juli bei *Pinus* fand. Mit Hilfe der Parenchymbänder (vgl. Huber 1939a) ist die genaue Altersbestimmung der Siebröhren an Radialschnitten leicht möglich. Außerhalb des peripherstenParenchymbandes (Taf. III Fig. 3) liegen die vorjährigen, überwinterten Siebröhren, die ebenso plasmolysierbar sind, wie die ältesten diesjährigen unmittelbar innerhalb dieser Parenchymschicht (Taf. III Fig. 4).

Diese Befunde waren nun leider noch immer kein sicherer Beweis, daß tatsächlich auch funktionstüchtige Siebröhren plasmolysierbar sind. Wie das späte Auftreten des Saftflusses angeschnittener Siebröhren von Laubbäumen zeigt, ist mit der vollen Funktionstüchtigkeit sicher erst Mitte Juli bis August zu rechnen. Entscheidend konnten daher erst Versuche im Hochsommer werden. Gerade in diesem Sinne sind ja, wie schon betont, auch die Versuche Schumachers nicht als ganz eindeutiger Beweis der Plasmolyse funktionstüchtiger Siebröhren anzusehen gewesen (dies gilt wenigstens für die Baumsiebröhren), da der Großteil seiner Versuche im Frühjahr und Frühsommer durchgeführt wurde. Für solche Zeitpunkte wurde auf Grund eigener Erfahrung niemals eine Unplasmolysierbarkeit postuliert.

Während bis Ende Juli die Plasmolysierbarkeit, wie oben geschildert wurde, ohne große Schwierigkeiten erzielt werden konnte, waren Mitte August von der gleichen Föhre und Fichte in zahlreichen Schnitten die nunmehr sicher funktionstüchtigen[1]) Siebröhren aller-

1) Ihre Funktion war daraus zu ersehen, daß nunmehr die Markstrahlzellen

meist tot. Nur in seltenen Fällen konnten Siebröhren lebend und mit voller Sicherheit plasmolysiert gefunden werden. Um sicher zu gehen, daß es nicht Zufall ist, wenn wir vereinzelte reife Siebröhren plasmolysiert erhalten, sondern eine allgemeingültige Tatsache, habe ich einen für die Siebröhren besonders schonenden Weg bei der Präparation eingeschlagen.

Schon 1938 versuchten wir (Huber & Rouschal), mit dem Auflichtmikroskop direkt am Baumstamm die tangential angeschnittene Safthaut zu untersuchen; fiele bei solchem Verfahren doch der härteste Eingriff, nämlich das Abschneiden der Siebröhren, weg. Mit unserer damaligen provisorischen Apparatur war der Sache nicht näher zu kommen. Ich habe nun mit einem, vom Reichsforschungsrat zur Verfügung gestellten, verbesserten Modell, daß aus einem Leitzschen Ultropak, einem schweren Kreuztisch und einer speziell angefertigten Anschnallvorrichtung bestand, die gleichen Untersuchungen erneut aufgenommen. Leider wieder vergebens. Ich mußte erkennen, daß es ausschließlich die ungünstigen optischen Eigenschaften der Siebröhren sind, die eine genaue Auflichtbeobachtung mit gewöhnlichem Licht völlig unmöglich machen. Diese Versuche waren aber der Anstoß zu einem abgeänderten Verfahren, das sich als recht brauchbar erwies. Sobald es möglich ist, die Siebröhren im intakten Zustand am Baum zu plasmolysieren oder wenigstens ihres Turgors zu berauben, müßte es auch gelingen, die labilen, funktionstüchtigen Siebröhren im abpräparierten Rindenstück unausgeflossen zu erhalten, und dann im mikroskopischen Schnitt im normalen Plasmolyseverfahren weiter behandeln zu können. Von dieser Voraussetzung ausgehend, habe ich in Paraffinnäpfchen (Abb. 2) konzentriertes Glyzerin an die noch durch eine dünne Rindenparenchymschicht geschützte Safthaut herangebracht und mehrere Stunden einwirken lassen. Schnitt ich dann die Safthaut vorsichtig mit einigen Lagen Holz ab, so zeigte sich — und dies gilt ebenso für die Laubbäume wie mit abgewandelten Verfahren der Plasmolytikumanbringung auch für *Cucurbita* —, daß tatsächlich mehr Siebröhren erhalten bleiben und im mikroskopischen Schnitt zu ganz normalen Plasmolysen geführt werden können. Ein großer Prozentsatz der reifen Siebröhren war freilich auch dann tot, doch war die Gewähr der Allgemeingültigkeit der Plasmolysierbarkeit immerhin gestiegen. Bemerkenswert war, daß die Siebröhren und größtenteils auch das Parenchym am Stamm bei dem eben geschilderten Verfahren nur zur Er-

— im Gegensatz zum Julimaterial — dicht mit Stärke erfüllt waren, die naturgemäß erst nach Zuleitung von Zucker in dem Stammsiebteil entstehen konnte.

schlaffung, nicht aber zur Plasmolyse selbst gebracht werden konnten. In Schnitten, die sofort in Paraffinöl zur Untersuchung kamen, gelang es jedenfalls nicht, solche zu beobachten. Erst die Zufuhr des Plasmolytikums zum Schnitt führte zu den vereinzelten Plasmolysen der Siebröhren. Ich erklärte mir das so, daß am Stamm der Wasserzustrom aus dem Holz durch das Kambium infolge der freiwerdenden Saugkräfte der entspannten Zellen ausreichte, die Safthautelemente, wenn schon nicht vor der Erschlaffung, so doch vor Plasmolyse zu schützen.

Kurz möchte ich noch ein weiteres Verfahren erwähnen, daß ich ebenfalls bei *Pinus* mit Erfolg anwendete, um selbst Anfang Oktober noch mehr Plasmolysen an funktionstüchtigen Siebröhren zu erzielen, als es beim einfachen Plasmolyseverfahren der Fall war. Ich ging von der bekannten Tatsache aus, daß Al-Salze und Erdalkalien die Eigenheit haben, das Protoplasma zu härten, was sich aus der Bildung von Krampfplasmolysen erschließen läßt (Szücs 1913, Scarth 1924, Weber 1924). Da wir, wie unten noch eingehender zu betrachten sein wird, bei reifen Siebröhren einen besonders stark hydratisierten und deshalb sehr labilen Protoplasten haben, schien mir eine Behandlung mit $AlCl_3$ bzw. $CaCl_2$ aussichtsreich zur Erhaltung des lebenden Protoplasten und zur Erzielung von Plasmolysen. Ich behandelte die Siebröhren am Baume, wie in den obigen Versuchen mit Glyzerin, nunmehr mit einem Gemisch der beiden Chloride in molarer Konzentration, schnitt nach mehreren Stunden die erschlaffte Safthaut ab und stellte Handschnitte her, die ich sofort im gleichen Plasmolytikumgemisch untersuchte. Es gelang mir auf diese Weise, eine ganze Anzahl von reifsten Siebröhren auch im Oktober noch zu plasmolysieren. Damit können wir zusammenfassend feststellen, daß bei den Coniferen mit Sicherheit Plasmolysen der funktionstüchtigen Siebröhren möglich sind.

B. Versuche mit Laubbäumen.

Es wäre von Interesse gewesen, im Vergleich mit dem Verhalten der 2jährigen Siebröhren der Coniferen die ebenfalls mehrjährigen Siebröhren von *Tilia* auf ihre Plasmolysierbarkeit zu untersuchen. Orientierende Proben im Frühjahr zeigten aber, daß in Längsschnitten die Beobachtung feinerer Details an diesem uneinheitlich gebauten, mit reichlichen Reserven erfüllten Siebteil ausgeschlossen war. Ich wählte daher einige geeignetere Typen mit nur 1jährigen Siebröhren, was ja dem allerhäufigsten Fall entspricht (Huber 1939a). Die Untersuchungen an diesen (*Aesculus*, *Crataegus*, *Robinia*) wurden erst begonnen, als die Bäume schon voll im Laube standen (Mitte Juni). Versuche mit

Crataegus am 11. und 12. Juni ergaben eindeutige Plasmolysen in den äußersten Siebröhrenlagen, wenn auch nicht mehr allzu zahlreiche. Obgleich das Objekt infolge seiner engen Siebporen (*Rosaceen!* — HUBER 1939a) für die plasmatischen Untersuchungen günstig schien, so war doch wieder die Siebröhrengliedlänge, sowie eine gewisse Unübersichtlichkeit des Materials störend. Ich benutzte daher für die Hauptversuche den viel klareren, durch mittlere Gliedlängen und mittelweite Poren ausgezeichneten Siebteil der Roßkastanie. Trotz der günstigen anatomischen Beschaffenheit bot dieser, ebenfalls am Ende des ersten Junidrittels erstmalig untersucht, auch nicht geringe Schwierigkeiten beim Plasmolysieren. Allermeist waren die Siebröhren tot, und nur ganz selten fanden sich unter den alleräußerst gelegenen Siebröhren solche mit plasmolysiertem Protoplasten. Diese Tatsache, daß die alleräußersten, verhältnismäßig engen Siebröhren (die Erstlinge des jeweiligen Jahreszuwachses) im Vergleich mit den folgenden weiteren Siebröhren viel leichter zu plasmolysieren sind, fiel mir bei *Aesculus* nicht zum ersten Male auf. Ich fand dasselbe ein Jahr früher auch bei *Ulmus* verwirklicht.

Ganz schlimm stand es schon am 13. Juni mit *Robinia pseudacacia*, unserem Hauptversuchsobjekt von 1938. So sehr verlockend die leicht beobachtbaren, kurzgliederigen Siebröhren dieses Baumes waren, so ungünstig erwiesen sie sich für die Lebenduntersuchungen wegen ihrer großen Siebporen, durch welche der Protoplast infolge des Turgors herausgepreßt wurde. Hier, wie in ähnlichen Fällen mit so weiten Poren *(Fraxinus)*, haben wir es sicher mit starken pathologischen Veränderungen beim Abschneiden kleiner Rindenteile zu tun. Bei *Robinia* wird nicht nur das Plasma, sondern oft sogar der stark gequollene Eiweißkörper[1]) durch die Siebporen gedrückt.

Es war, wie schon oben ausgeführt wurde, erstaunlich, daß bei *Robinia* die Labilität der Siebröhrenprotoplasten sogar schon in Erscheinung trat, als noch der Kern völlig intakt vorhanden war (Mitte Juni) und sich noch kein Anzeichen des Saftflusses ergab. Nur wieder die alleräußersten Siebröhrenlagen des ersten Frühjahrsbandes wiesen noch vereinzelt Glieder im unmittelbaren Anschluß an die peripheren, obliterierten Siebröhren des Vorjahres mit Plasmolysen auf. Ebenso waren natürlich die noch recht unausgebildeten Siebröhren der Sommerbänder plasmolysierbar. Diese Ergebnisse äußerster Labilität der älteren Siebröhren, selbst im Frühsommer schon, machen es verständlich, daß wir 1938 auch bei ausgedehntesten Unter-

1) Der Inhaltskörper wird in der Literatur „Schleimkörper", „slime body", genannt. Da chemische Untersuchungen (STRASBURGER 1891, MRAZEK 1910, eigene unveröffentlichte Untersuchungen) eindeutig erwiesen haben, daß dieser Inhaltskörper nichts mit Schleimen zu tun hat, sondern aus Eiweißen besteht, vermeide ich den ungenauen Ausdruck.

suchungen an diesem Objekt im Laufe des Hochsommers und Frühherbstes keine Plasmolysen mehr in den äußeren Siebröhrenbändern finden konnten.

Gehen wir nunmehr zu den Versuchen mit Laubholzsiebröhren im Hochsommer und Frühherbst über. Bei *Aesculus* nahmen die Schwierigkeiten im Hochsommer noch erheblich zu und Mitte August waren es in zahlreichen Schnitten nur ganz vereinzelte Siebröhren, denen mit Sicherheit Plasmolysierbarkeit zugesprochen werden konnte. Hier erwies sich nun das bereits für die Coniferen geschilderte Verfahren mit Vorplasmolyse am Stamm als ausgezeichnet. Zwar waren es auch dann nur relativ wenige Siebröhren, die sichtbare Plasmolysen ergaben; daneben gab es aber auch solche, die allen Anzeichen nach am Leben geblieben waren, ohne Plasmolysen aufzuweisen, obwohl das Plasmolytikum mit $1^1/_2$ Mol Traubenzucker resp. 20 und 30% Glyzerin sicherlich hypertonisch war. Es blieben auffälligerweise gerade jene Siebröhren ohne Plasmolysen, die besonders viel Stärke aufwiesen, mit deren Hilfe man selbst leichtere Abhebungen des Protoplasten sicher hätte erkennen können. Verständlich erscheint mir die Unplasmolysierbarkeit nur durch eine gewisse Permeabilitätserhöhung, wenn vielleicht nicht am ganzen Protoplasten, so doch wenigstens an den Siebplatten. Dieser Zustand ermöglichte gerade mit diesen Siebröhren ein Experiment, das unten noch des näheren beschrieben werden wird (S. 150). Allgemein wäre noch zu betonen, daß die Protoplasten der reifen Siebröhren von *Aesculus* ungemein zart sind, so daß sie erst bei 700—900facher Vergrößerung gut zu sehen waren.

Im Herbst versuchte ich wie bei den Coniferen auch bei *Aesculus* das Härtungsverfahren mit $CaCl_2$ und $AlCl_3$ am Stamm in orientierenden Untersuchungen anzuwenden, erzielte aber im Gegensatz zu den Coniferen keinen Erfolg.

Abschließend läßt sich für *Aesculus* sagen, daß die reifen funktionstüchtigen Siebröhren zwar plasmolysierbar sind, daß aber infolge der Labilität der Protoplaste und der damit verbundenen technischen Schwierigkeiten der Präparation einerseits sowie einer Permeabilitätserhöhung an den Siebplatten (vgl. S. 151) andererseits die Fälle plasmolysierter Siebröhren äußerst spärlich sind.

C. Versuche mit *Cucurbita pepo*.

Wie Huber u. Rouschal berichteten, war es unter zahlreichen Versuchen mit Cucurbitasiebröhren mehrmals gelungen, auch solche mit zartesten Protoplasten und durchbrochenen Siebporen zu plasmolysieren. Bei *Cucurbita* sind die reiferen Siebröhren von den unfertigen, jungen

besonders leicht zu unterscheiden, da letztere einen dicken Protoplasten mit auffälligen knotigen Verdickungen und einen mächtigen Zellkern besitzen (vgl. die Abbildungen bei FISCHER 1884, CRAFTS 1932, HUBER u. ROUSCHAL).

Da es natürlich zwischen den beiden alle Übergänge gibt, meinte CRAFTS auf Grund der Zartheit der Siebplatte, die in unserem Bilde ohne Callusauflagerung war, daß es sich doch noch um unfertige Zustände gehandelt habe. Da, wie gesagt, SCHUMACHER inzwischen über zahlreiche Fälle der Plasmolysierbarkeit berichtete und mir nunmehr selbst an den reifen Baumsiebröhren die Plasmolysen gelungen waren, habe ich natürlich auch die Versuche mit *Cucurbita* wiederholt. Verwendet wurden Schnitte von Sprossen und Stielen ausgewachsener Blätter. Im Gegensatz zu unserem Pflanzenmaterial von 1938 floß bei diesem Material beim Abschneiden reichlich Saft. Es war daher nicht zu verwundern, daß es sehr schwer gelang, im Sproß erwachsene Siebröhren plasmolysiert zu finden. Etwas leichter wurde es, wenn man entsprechend der Vorplasmolyse am Baum mit einer feinausgezogenen Pipette Glyzerin in die Zentralhöhle des Sprosses oder Blattstieles injizierte, das Gewebe so vor dem Abschneiden erschlaffte und damit dem Auspressen der Siebröhren durch den Turgor vorbeugte. Bedeutend leichter als im Sproß war es, im Blattstiel Plasmolysen mit und ohne Vorbehandlung zu erzielen, obgleich der Protoplast in vielen Fällen ungemein dünn und äußerst schwer zu sehen war.

Fassen wir die Befunde an Nadel- und Laubbäumen, sowie an *Cucurbita* zusammen, so können wir feststellen, daß auch die reifen, funktionstüchtigen Siebröhren plasmolysierbar sind. Es sind zwar die Protoplasten im funktionstüchtigen Zustand äußerst empfindlich, sobald sie aber am Leben bleiben, ergeben sich vielfach eindeutige Abhebungen des Protoplasten von den Längswänden. Den Hauptakzent müssen wir daher auf die enorm gesteigerte Empfindlichkeit der funktionstüchtigen Siebröhren gegen mechanische Einflüsse legen und nicht so sehr, wie CRAFTS und HUBER u. ROUSCHAL postulierten, auf eine allseitige Permeabilitätssteigerung, wenngleich, wie wir unten sehen werden, unbedingt mit einer lokalen hohen Durchlässigkeit an den Siebplatten zu rechnen ist. SCHUMACHER hat die Plasmolysierbarkeit kürzlich auf Grund seiner Ergebnisse an Siebröhren von Blattstielen und jungen Zweigen ebenfalls festgestellt. Wie bereits S. 140 angedeutet, waren zumindest seine Versuche mit Baumsiebröhren in den allermeisten Fällen (*Catalpa* und *Carpinus* ausgenommen) nicht ganz sicher beweisend. Denn auf Grund des späten Auftretens des

Saftflusses scheint es, daß die Baumsiebröhren durchschnittlich erst im Laufe des Juli zur vollen Leistungsfähigkeit gelangen. Schumacher behauptet, daß bei den Blattstielen und krautigen Pflanzen, die sekundär nicht in die Dicke wachsen, das Entwicklungskriterium wegfallen muß, d. h., daß also alle vorhandenen Siebröhren funktionstüchtig sind. Es besteht aber auch in diesen Fällen die Möglichkeit, daß die Siebröhren nicht auf einmal, sondern von den Erstlingen angefangen allmählich in ihr funktionstüchtiges Stadium eintreten. Ein wirklich einwandfreies Beispiel, das Schumacher beschreibt, ist *Pelargonium*, wo er mit der Kaliumfluoreszeinmethode den Nachweis erbrachte, daß diejenigen Siebröhren, die zur Rapidleitung des Farbstoffes fähig sind, gleichzeitig auch Plasmolysen ergeben, eine Tatsache, die ich am eigenen Material voll bestätigt finden konnte.

Wenn wir 1938 trotz der von uns selbst gefundenen Plasmolysierbarkeit älterer *Cucurbita*-Siebröhren dazu neigten, für funktionstüchtige Siebröhren allgemein Unplasmolysierbarkeit anzunehmen, so war die Ursache dafür neben dem überwältigenden Eindruck des bei *Robinia* stets wiederkehrenden Bildes kollabierter Siebröhren der äußeren Bänder trotz vorsichtigster Behandlung, der gleichlautende Befund von Crafts für nicht weniger als 57 Arten verschiedenster systematischer Stellung. Es schien danach unwahrscheinlich, daß es nur technisches Unvermögen und nicht die Eigenheit der reifen Siebröhren sein sollte, die die Plasmolyse unmöglich machte. Die erwähnte Plasmolysierbarkeit von *Cucurbita* konnte damals nicht so sehr ins Gewicht fallen, weil wir ein Material zur Verfügung hatten, das fast keinen Saftfluß beim Abschneiden ergab, was auf eine gewisse Abweichung von der Norm hinwies.

Wir müssen nun die Frage beachten, ob mit der Sicherstellung der Plasmolysierbarkeit reifer Siebröhren auch die Hypothese einer gesteigerten Permeabilität fällt. Sobald mit Zucker eine Plasmolyse erzielt werden kann, scheint es tatsächlich so zu sein[1]). Andererseits dürfen wir nicht übersehen, daß eine rasche Assimilatleitung nur durch eine Permeabilitätserhöhung möglich ist. Damit ist aber keineswegs entschieden, ob diese am ganzen Protoplasten gleichmäßig besteht, oder aber, ob vielleicht nur das Plasma an den Siebplatten, speziell in den Siebporen, leichter wegig ist. Die Forderung einer Permeabilitätserhöhung ergibt sich zunächst unabhängig vom Leitprinzip, d. h. für die Massenströmung wie für eine diffusionsartige Leitung in gleicher Weise. Wenn ich im weiteren besonders diejenigen Verhältnisse herausstreiche, die uns als Voraussetzung für eine Massenströmung nötig scheinen, so geschieht dies deshalb, weil Schumacher (1937, S. 720) mit der

1) Wie weit Ruhland (1912), der eine ganz normale Permeabilität bei Siebröhren feststellte, mit funktionstüchtigen und nicht mit jungen Siebröhren arbeitete, kann ich nicht beurteilen.

Widerlegung einer Voraussetzung MÜNCHS, nämlich der der offenen Kommunikation der Siebröhrenvakuolen, bereits die Möglichkeit einer Massenströmung in den Siebröhren schwinden sieht. Abgesehen davon, daß FREY-WYSSLING (1932) mathematisch abgeleitet hat, daß die Massenströmung auch ohne offene Kommunikationen der Vakuolen vor sich gehen kann, sind noch eine Reihe weiterer Eigenheiten der Siebröhren gerade in Bezug auf die Massenströmung diskussionswert.

MÜNCH (1930) fordert im Hinblick auf die Einhaltung der Längsrichtung des Assimilatstromes, daß das seitenständige Wandplasma weniger durchlässig ist als das an den Siebplatten. Theoretisch wäre die Längsströmung allerdings ebenso gewährleistet, wenn die Siebröhren — ähnlich wie die Gefäße — mit einem Mantel schwer durchgängiger Parenchymzellen umgeben sind, was ja recht allgemein zutrifft[1]).

Durch die Plasmolyseergebnisse ist nunmehr der Beweis erbracht, daß das Plasma an den Längswänden der Siebröhren für Zucker usw. tatsächlich schwer durchgängig ist. Es bleibt nun zu erwägen, wie weit eventuell die Siebporen wegig sind, was trotz der Plasmolysierbarkeit m. E. nicht ausgeschlossen ist. Denn es besteht die Möglichkeit, daß die Siebröhrenglieder, die mit dem plasmolysierten Glied durch die Siebplatten verbunden sind, durch pathologische Verlagerungen ihres Inhaltes eine Verstopfung der Siebporen erfahren, die dem Plasmolytikum den Eintritt erschweren, während das Wasser infolge seines höheren Permeationsvermögens auch an den Längswänden durch den osmotischen Sog austreten und zur Abhebung des Wandbelages führen würde. Diese Vermutung findet durch experimentelle Ergebnisse eine Stütze. Versuche von MÜNCH (1930, S. 130) über den Saftfluß aus angeschnittenen Siebröhren ergaben, daß die in Mitleidenschaft gezogenen Siebröhrenglieder ihren Normalzustand wiedererlangen, so daß sie nach einiger Zeit schon wenige Zentimeter über der ersten Schnittstelle durch einen zweiten Einschnitt zu neuem Saftfluß gebracht werden können, was unmittelbar nach dem ersten Schnitt nicht möglicht ist. Hier muß durch Verstopfung der schnittnahen Siebröhrenglieder eine neuerliche Auffüllung und Turgorregeneration der anschließenden, vom Schnitt etwas entfernteren Glieder erfolgt sein.

Die biologische Bedeutung derartiger Regenerationen liegt, wie MÜNCH zeigt, auf der Hand. Bestünde doch ohne sie die Gefahr, daß bis zum Verschluß der Wunden durch neugebildetes Gewebe wertvollstes Assimilatmaterial verlorenginge.

Der einfache Saftflußversuch könnte als eine pathologische Er-

1) MÜNCH gibt allerdings an, daß Siebröhren auch unmittelbar an obliterierte Siebröhren bzw. Interzellularen grenzen.

scheinung angesehen werden und besäße daher keinerlei Beweiskraft (SCHUMACHER 1937). Es ist aber schon sehr zweifelhaft, ob man auch den Dauerausfluß von angeschnittenen Siebröhren, wie ihn CRAFTS (1933, 1939) an Kürbis 24 Stunden lang beobachten konnte, schlechtweg als pathologisch bezeichnen kann. Durch die Regeneration wird aber ganz klar bewiesen, daß die vom Schnitt entfernteren Siebröhrenglieder, trotz der normalerweise großen Längswegigkeit, beim Anschneiden ihren Lebenszustand nicht aufgeben, denn eine Turgorregeneration wäre sonst auf die Dauer nicht denkbar.

Wie die MÜNCHschen Befunde weisen auch eigene Untersuchungen mit *Aesculus*-Siebröhren, die hier geschildert werden sollen, auf eine größere Durchlässigkeit an den Siebplatten hin. Wie schon erwähnt, kamen besonders nach Vorplasmolysen am Stamm in Schnitten der *Aesculus*-Safthaut immer wieder zahlreiche stärkeerfüllte Siebröhren vor, die keine Abhebung des Protoplasten erkennen ließen. Im Gegensatz zu den toten Siebröhren waren ihre Stärkekörnchen nicht von der ursprünglichen Lage an der gesamten Peripherie der Vakuole gerückt. Auch befanden sie sich in völliger Ruhe, während solche toter Siebröhren immer lebhafte BROWNsche Molekularbewegung aufwiesen. Legte ich Stücke von Material, das am Stamm durch Vorplasmolyse erschlafft war, in Paraffinöl und saugte unter dem Mikroskop von einer Seite des Deckglases langsam hypertonisches Glyzerin so lange durch, bis es das eine Ende des Schnittes erreichte, so bewirkte ich dadurch einen einseitigen osmotischen Sog auf die lebenden Zellen, der sich naturgemäß im Schnitte fortpflanzte. Erfolgte dieser Sog vornehmlich in der Längsrichtung des Schnittes, was durch die Lage der Siebröhren parallel zur Sogrichtung gewährleistet war, so führte er in zahlreichen Fällen dazu, daß nunmehr eine Strömung in den Siebröhren zu der dem Sog zugekehrten Siebplatte einsetzte. Diese Strömung des Zellsaftes in den lebenden Siebröhren konnte durch Stärkekörnchen, die sich von ihrer labilen Plasmaanheftung an den Längswänden (vgl. unten) loslösten und gegen die Siebplatte mitströmten, gut beobachtet werden.

Durch den osmotischen Außensog wurde somit eine Massenströmung des Zellsaftes der Siebröhren ausgelöst, der durch die Siebporen zum Osmoticum ging. Da keine Plasmaabhebungen von den Seitenwänden erfolgte, mußte auch durch die gegenüberliegende Siebplatte Wasser eingeströmt sein. Eine Degeneration des lebenden Plasmas konnte dabei nicht wahrgenommen werden, auch zeigten die an den Längswänden der Vakuole zurückgebliebenen Stärkekörner weiterhin keine BROWNsche Molekularbewegung. Damit ist erstmalig unter dem Deckglas die

Massenströmung in den lebenden Siebröhren beobachtet und gleichzeitig der Beweis für die spezifische Längswegigkeit erneut erbracht worden.

Daß mit dem Zellsaftstrom Stärkekörnchen mitgeführt werden, ist aus ihrer Lage nicht schwer zu verstehen (vgl. dagegen die Meinung von SCHUMACHER 1933). Bisher war es allerdings sehr umstritten, wo die Stärkekörner liegen, im Plasma oder in der Vakuole. So gibt SCHMIDT das Plasma als stärkeführende Schicht an, andererseits spricht CRAFTS (zit. nach SCHUMACHER 1940) von stärkeerfüllten Vakuolen. Wie ich mich an gut fixiertem Material überzeugen konnte, liegen die Stärkekörner nicht im äußeren Plasmamantel, sondern ragen von dessen Innenseite in die Vakuole hinein. Es ist somit tatsächlich schwer zu entscheiden, ob die Stärkekörner noch im Plasma liegen, d. h. wenigstens noch von einer feinen Plasmahaut umgeben sind oder nicht. Nimmt man bei den reifen Siebröhren einen Schwund der normalen Abgrenzung zwischen Plasma und Vakuole an (vgl. S. 152f.), so ist diese Frage natürlich müßig. Jedenfalls ist aber möglich, daß bei der stärkeren Strömung, wie sie durch den Glyzerinsog ausgelöst worden ist, die Stärkekörner aus ihrer labilen Lage herausgeworfen werden können und dann zur Siebplatte gehen.

Mit diesem Experiment glaube ich bewiesen zu haben, daß tatsächlich dem Plasma an den Siebplatten eine relativ höhere Permeabilität — zumindest für Wasser — zukommt, als dem seitenständigen Plasma. Gleichzeitig zeigt der Versuch, daß unter gewissen Umständen — hier ist es die Herabsetzung des Turgors infolge der Vorplasmolyse — die Siebröhren trotz der erhöhten Permeabilität intakt bleiben und offensichtlich nur in bestimmten Fällen, nämlich bei Verstopfungen an den Siebplatten, zur Plasmolyse gebracht werden können. Bemerkt sei noch, daß in den plasmolysierenden, verstopften Siebröhren die lebhafte Strömung durch die Glyzerinwirkung nicht in Erscheinung trat, es erfolgte die Wasserabgabe wohl langsamer und allseitig durch das gesamte Protoplasma.

Nachdem wir nunmehr nicht nur durch die zwingende logische Notwendigkeit der raschen Assimilatleitung, sondern auch durch ein Experiment gesehen haben, daß tatsächlich — wenigstens einem Teil des Siebröhrenplasmas — große Durchlässigkeit für Wasser zukommt, ergeben sich zwei neue Fragen. Die eine ist, ob dieselbe Permeabilitätserhöhung außer für Wasser auch für andere Stoffe besteht. Auf Grund obiger Versuche ist dieses nicht entscheidbar, aber die Versuche über die rasche Leitfähigkeit des Kaliumfluoreszeins sprechen sehr dafür; abgesehen davon, daß wir sie auf Grund der Assimilatleitung mindestens für Zucker und Eiweiß (-Vorstufen) fordern müssen. Zweitens fragt es sich, wie das Plasma — sogar nur lokal — diese hohe Permeabilität erreichen kann.

MÜNCH (1930) nimmt bekanntlich an, daß die Vakuolen durch offene Kommunikationen in den Siebporen verbunden sind. Dem widersprechen zahlreiche ältere

Befunde sowie die neuen von Crafts (1932) und Mühldorf (1937), die an fixiertem Material kompakte Plasmamassen in den Siebporen gefunden haben. Münch betont aber, daß die Ergebnisse an fixiertem Material nicht zwingend von der Kompaktheit der Plasmodesmen überzeugen können, da die Fixierung meist nicht vollendet gelingt, sondern immer wieder Abhebungen, Verlagerungen und Schrumpfungen des Protoplasten vorkommen.

Trotzdem ist auch die Münchsche Vermutung offener Vakuolenverbindungen fraglich. Wir müssen aber doch im Hinblick auf die hohe Permeabilität nicht-fettlöslicher Stoffe (Wasser, Zucker), d. h. solcher, die auf Grund der Porenfiltration durch das Plasma gehen, relativ große und leichtwegige Poren annehmen. Diese müssen aber keineswegs mikroskopische Ausmaße erreichen, um die Assimilate in hinreichender Menge zu leiten. Sie würden in größerer Anzahl sicher auch bei submikroskopischer Ausdehnung dafür genügen. Diese Möglichkeit scheint mir durch die ausgezeichnete Wasser- und Stoffleitung der submikroskopischen Poren der Membranen (Strugger 1938, 1939, Rouschal u. Strugger 1940) mit Durchmessern von etwa 100 Å. (Frey-Wyssling 1936, 1937) belegt zu sein.

Mit der Erkenntnis der hohen Leitfähigkeit der Membranen können wir auch die Bedenken Schumachers, die er auf Grund der Befunde von Strasburger (1891) und Hill (1901) über das Erhaltenbleiben der Mittellamellen bei den Coniferensiebröhren gegen die Münchsche Hypothese äußert, als hinfällig betrachten.

Wie die zahlreichen zellphysiologischen Untersuchungen zeigen, ist es nun keineswegs das Binnenplasma, sondern die äußere und innere Plasmagrenzschicht, die insbesondere über die Stoffwegigkeit entscheidet (Höfler 1931, Strugger 1931). Da es sich in beiden Fällen um ganz zarte, vielleicht nur monomolekulare Oberflächenfilme handelt, ist es sehr wahrscheinlich, daß wir in den Plasmodesmen der Siebplatten nicht etwa kompaktes Plasmalemma finden, sondern einen Strang Binnenplasma, der nur von einem Plasmalemma umhüllt ist. Damit fällt diese eine der schwerdurchgängigen Grenzschichten als hemmende Membran bei der Stoffströmung von Glied zu Glied weg. Wie es sich mit der inneren Plasmahaut, dem Tonoplastenhäutchen, bei den Siebröhren verhält, ist noch ungewiß. Für junge Siebröhren ist die Existenz des Tonoplasten ganz gewiß, da wir 1938 neben Vakuolenkontraktion bei der Neutralrotfärbung junger *Robinia*-Siebröhren auch direkte Tonoplastenplasmolyse erzielten. Bei reiferen Siebröhren soll aber, wie Abbé u. Crafts (1939) für *Pinus strobus* angeben, die scharfe Grenze zwischen Plasma und Vakuole verschwinden. Auch Esau (1939) gibt für die Siebröhren anderer Gattungen eine nicht sehr scharfe Trennungsschicht

zwischen Plasma und Vakuole an. Schließlich sei einer älteren Feststellung von A. Fischer (1884, S. 38) gedacht. In seiner Monographie schreibt er über das Siebröhrensystem der *Cucurbitaceen:* „Immer und immer wieder habe ich die Wandung junger Früchte untersucht, um wenigstens den Hüllschlauch, dessen Fehlen mir zunächst unerklärlich war, nachzuweisen. Endlich mußte ich davon absehen, da in vielen tausenden von Siebröhrengliedern weiter nichts als der bekannte glänzende Schleim enthalten war, welcher sie vollständig ausfüllte und die Siebplatten durchsetzte." Demgegenüber finden wir mit Sicherheit auch Beispiele, wo eine ganz scharfe Abtrennung des dichten Protoplasmawandbelages von der zentralen Vakuole zu sehen ist, wie z. B. bei den Siebröhren von *Pelargonium* (Schumacher, eigene Befunde). Auch bei den Coniferen erscheint mir entgegen den Befunden von Abbé u. Crafts eine Abgrenzung einwandfrei gegeben. Hinwider war ich wirklich unsicher bei den reifen *Cucurbita-* und *Aesculus*-Siebröhren. Man sieht zwar z. B. nach Plasmolyse eine scharfe Außenkontur des Protoplasten, eine Grenze an der Innenseite hingegen nicht sicher. Diese Unsicherheit bei der Lebendbeobachtung ist nicht verwunderlich, da, wie schon erwähnt, der Protoplast reifer Siebröhren ungemein zart ist (Crafts gibt in einem Falle 0,2 μ Dicke an). Erst Fixierungen an *Aesculus* ergaben, daß ein kompakter Plasmamantel vorhanden ist. Da aber von diesem die Stärkekörner, die sich im Normalfall (Parenchymzellen) sicher im Plasmainnern befinden, in die Vakuole hineinreichen, wäre es denkbar, daß der kompakte Außenmantel nicht das gesamte Plasma, sondern eine Art Ektoplast ist[1]).

Um der Sache näher zu kommen, habe ich orientierend versucht, bei Kürbissiebröhren mittels KNO_3 und KCNS durch Aufquellung des Binnenplasmas im Sinne Höflers (1928) Kappenplasmolysen zu erhalten und so evtl. eine schärfere Abhebung des Tonoplasten zu erzielen. Am Phloëmparenchym sind, besonders mit KCNS, nach kürzester Zeit Kappenplasmolysen entstanden, bei den wenigen plasmolysierenden Siebröhren wartete ich dagegen vergeblich darauf.

Tonoplasten konnte ich demnach ebensowenig sehen wie vorher bei gewöhnlicher Plasmolyse. Auf Grund des Versuches wäre es denkbar, daß eben infolge Fehlens der inneren Grenzschicht die Aufquellung des Binnenplasmas gar nicht festzustellen war und die scharfe Außenkontur

1) Die Bezeichnung Ektoplast schließt aus, daß es sich wie beim Plasmalemma um eine Grenzhaut handeln muß. Wir verstehen darunter periphere Schichten des Plasmas, die sich ja häufig vom inneren Binnenplasma unterscheiden (hyaline und körnige Schicht, ruhendes Außenplasma bei Chara, Nitella u. a.)

nach Plasmolyse nicht dem gesamten Protoplasten, sondern tatsächlich einer Art Ektoplast entspricht. Leider trat bei längerem Zuwarten immer der Tod der Siebröhren ein, wobei nicht festzustellen war, ob dies nicht evtl. schon am Beginn der Quellung der Fall war, so daß aus diesem Grunde die Kappenbildung unterblieb. Sichere Schlüsse können wir daher aus diesen Versuchen nicht ableiten. Da aber die Möglichkeit einer Tonoplastenrückbildung oder -veränderung bei reifen Siebröhren gar nicht so ausgeschlossen ist, schiene es mir schon der Mühe wert, daß dieses Problem speziell von zellphysiologischer Seite näher beachtet würde. Vorläufig müssen wir freilich erkennen, daß das Fehlen einer inneren Sperrschicht zwar für die Anhänger der Massenströmungstheorie eine sehr willkommene Tatsache wäre, bisher aber nicht im mindesten belegt ist. Ich möchte aber doch in diesem Zusammenhange nochmals auf die interessanten Ergebnisse von Uhlela (1939) an *Basidiobolus ranarum* hinweisen, weil sie einen konkreten Fall einer derartigen Umbildung in älteren Zellen darstellen. Es zeigt sich nämlich beim Schrittwachstum dieses Pilzes, daß die basalen „entleerten" Zellen zwar tatsächlich des Kernes, Binnenplasmas und der Vakuolenhaut entbehren, jedoch noch einen semipermeablen (plasmolysierbaren) Ektoplasten aufweisen. Wir sehen daraus, daß derartige Abnormitäten in speziellen Fällen tatsächlich vorkommen können.

Eine weitere Tatsache, der wir im Hinblick auf die Permeabilität besonderes Augenmerk schenken müssen, ist der natürliche Quellungsgrad des Protoplasmas. Wie aus den Untersuchungen Hofmeisters (1891) bis zu den jüngsten Permeabilitätsuntersuchungen (vgl. z. B. die zusammenfassende Darstellung über die Wasserpermeabilität bei de Haan, 1933) immer wieder hervorgeht, spielt die Hydratation des Protoplasmas und damit der Wasserzustand (Bindungsart des Wassers im Plasma) für die Permeabilität eine erhebliche Rolle. Freilich sind keine Fälle bekannt, wo infolge der Quellung des Protoplasten eine derartige Steigerung der Permeabilität vorkäme, daß sie mit der der Siebröhren vergleichbar wäre. Trotzdem werden wir nicht zu übersehen haben, daß die Protoplasten der reifen Siebröhren, wie aus der optischen Leere und der geringen Viskosität (Labilität!) hervorgeht, stark gequollen sind. Als Ausdruck des hochflüssigen Zustandes der Protoplasten haben wir auch die Tatsache zu werten, daß die Füllung der Siebporen beim Abschneiden in Fällen mit weiten Siebporen durch den Turgor herausgedrückt wird (Wilhelm, 1880, Taf. IX, Fig. 109). In gleichem Sinne ist auch die Alkalinität des Zellsaftes der Siebröhren (Sachs 1862) als quellungsförderndes Mittel in Erwägung zu ziehen,

zumal die Alkalien ($K^{\cdot}$) stark in den Vordergrund treten, während die entquellenden Erdalkalien ($Ca^{\cdot\cdot}$) spärlicher vorhanden sind (Zacharias 1884, Kraus 1884). Es scheint, daß alle diese Einzelheiten weniger zufällig zusammentreffen, sondern sehr wohl für die Funktion der Siebröhren maßgebend sind.

Im Anschluß an diese Erörterungen möchte ich noch kurz die mathematische Behandlung der Massenströmung durch Frey-Wyssling (1932, 1933) erwähnen, da sie mir für unsere Frage doch sehr maßgebend erscheint. Ausgehend von künstlich ausgelösten Strömungen des Milchsaftes von *Hevea brasiliensis* konnte er zeigen, daß 1. selbst eine 35 mal höhere Viskosität, wie sie der Siebröhrensaft aufweist, noch kein Hemmnis für eine rasche Druckströmung ist; 2. daß eine Massenströmung in den Siebröhren auch dann möglich ist, wenn die Vakuolen nicht (im Münchschen Sinne) kommunizieren, sondern durch Plasmabrücken getrennt sind und 3., daß eine Strömung auch in welken Systemen möglich ist (vgl. dazu auch Huber 1933).

Überblicken wir nochmals kurz die Ergebnisse über den plasmatischen Zustand der Siebröhren, so können wir feststellen, daß nach dem heutigen Stand unserer Kenntnis die Voraussetzungen für eine Massenströmung in den Siebröhren nicht weniger gegeben sind als die für eine diffusionsartige Stoffleitung. Ziehen wir noch zu der ontogenetischen Entwicklung die phylogenetischen Entwicklungsmerkmale hinzu (Huber 1939), so können wir erkennen, daß sich sogar immer mehr Merkmale für eine Massenströmung ergeben. Die Entscheidung, welches der beiden Prinzipien der Leitung tatsächlich verwirklicht ist, kann naturgemäß nur das physiologische Leitexperiment erbringen, was im Abschnitt IV ausführlich behandelt werden soll. Vorerst wollen wir noch kurz das theoretisch interessante Verhalten der Siebröhren gegen basische Farbstoffe betrachten.

III. Zur Vitalfärbung der Siebröhren mit Neutralrot.

Die Neutralrotfärbung ist ebenfalls geeignet, die Veränderung des Siebröhreninhaltes im Laufe seiner Entwicklung zu zeigen. Obwohl von Huber u. Rouschal, Crafts (1939) und Abbé u. Crafts (1939) darüber mehrfache Berichte vorliegen, sollen doch hier die eigenen neuerlichen Untersuchungen an *Pinus silvestris* und *Picea pungens*, die im Frühjahr und Herbst durchgeführt wurden, besprochen werden, da sie zu einigen Vertiefungen führten.

Ich habe die Siebröhren der beiden Coniferen sowohl am Stamm wie (hauptsächlich) an Schnitten angefärbt. Zur Verwendung kam eine

Neutralrotlösung in Aqua dest. (1:10000) oder in gleicher Konzentration in Phosphatpuffergemischen (vgl. Strugger 1938).

Es sei vorausgeschickt, daß ein Einfluß der Pufferung der Farblösung bei der Eigenheit der Färbungsverhältnisse nicht festgestellt werden konnte, offensichtlich bedingt durch eine starke Eigenpufferung des Siebröhreninhaltes. Da die kürzeste und einfachste Behandlung der Siebröhren immer die größte Wahrscheinlichkeit ergab, auch relativ reife Siebröhren lebend zu erhalten, wurde auch bei den meisten Versuchen von den Farblösungen, die mit destilliertem Wasser hergestellt waren, ausgegangen. Wie bereits Abbé u. Crafts für Coniferen und Huber u. Rouschal für *Robinia* zeigten, lassen sich die Vakuolen junger Siebröhren (bei *Robinia* auch die Geleitzellen) kräftig anfärben. Schädigungen sind dabei nichf festzustellen, bloß Vakuolenkontraktionen treten häufig in Erscheinung. Bei den Coniferen ist besonders auffällig, daß die Farben in den Vakuolen nicht, wie in den benachbarten Parenchymzellen, den geläufigen karmin- bis purpurroten, sondern einen ziegelroten Ton aufweisen. Eigenartigerweise gilt dies auch für alle Kambiumzellen, während die Parenchymzellen, sobald sie einigermaßen als solche erkennbar sind (größere Weite als die Siebröhren, Querwandbildungen), schon die Purpurfärbung annehmen.

Sobald sich die Siebröhren aus den ganz jungen Kambiumderivaten zu differenzieren beginnen und ihre Siebtüpfel anlegen, tritt gleichzeitig die Fähigkeit zur Neutralrotspeicherung zurück, die Zellzüge bleiben von Lage zu Lage nach außen hin rapid blasser, um schon vor den ersten völlig ausdifferenzierten Siebröhrenzügen farblos zu sein. Diese Tatsache konnte ich am Frühjahrs- und Herbstmaterial immer wieder feststellen. Die Schwierigkeit resp. das Versagen der Anfärbung mit zunehmender Entfernung vom Kambium war umso auffälliger, als das Plasma oft noch die gleiche Konsistenz aufwies wie das der jüngsten Siebröhren. Es stellte einen dicken Wandbelag dar, der häufig die zentrale Vakuole mehrfach durch Querbrücken zerteilte (vgl. dazu die gute Abb. 13 bei Abbé u. Crafts). Auch waren viele große Mikrosomen vorhanden und in den meisten Schnitten fand sich lebhafte Plasmaströmung. Versetzte ich nachträglich derartige Schnitte mit einer Zuckerlösung, so plasmolysierten alle lebenden Siebröhren völlig unabhängig von ihrer Färbbarkeit. Die Färbbarkeit ist also nur den allerjüngsten Siebröhren gemein, während die Plasmolysierbarkeit noch ohne jede Schwierigkeit weitergeht. Die Tatsache, daß noch keinerlei mikroskopische Änderungen des Plasmas bemerkbar sind, wenn die Färbbarkeit schon deutlich eingeschränkt ist, zeigt, daß schon

frühzeitig, bevor wir noch jedes andere Anzeichen der speziellen Differenzierung der Siebröhren optisch erkennen können, irgendwelche chemische Änderungen erfolgen, die die Speicherung der basischen Farbstoffe verhindern. Zunächst war auf Grund aller bisherigen, oben erwähnten Färbungsergebnisse allerdings nicht sicher, ob tatsächlich die Farbspeicherung verloren geht. Wie nämlich STRUGGER (1940) kürzlich zeigte, wird bei stärkerer Alkalinisierung die Farbbase frei, die einen gelben Farbton aufweist und in dünner Schicht im Hellfeld überhaupt nicht sichtbar ist. Da die Siebröhren einen alkalischen Zellsaft besitzen, war es gut möglich, daß sie zwar nicht das Farbsalz, wohl aber die Farbbase speichern. Angenehmerweise hat nun die Farbbase eine spezifische Fluoreszenz, sie kann daher im UV-Licht bequem festgestellt werden. Da das Farbsalz nur schwach dunkelrot leuchtet, kann die Base auf Grund ihrer grüngelben Fluoreszenz in lipoider Speicherung resp. der orangegelben Fluoreszenz bei Speicherung in wäßriger Phase selbst in Gemischen mit diesem nachgewiesen werden.

Um festzustellen, ob diese Möglichkeit bei den heranwachsenden Siebröhren verwirklicht ist, habe ich orientierend noch im Herbst Radialschnitte mit ungepuffertem Neutralrot gefärbt und nach der Hellfelduntersuchung auch im Lumineszenzmikroskop geprüft. Dabei stellte sich heraus, daß die jungen Siebröhren und das Kambium, welche wieder das Farbsalz in ziegelroter Farbe speicherten (Hellfeldbeobachtung), auch die freie Farbbase in ihrer Vakuole führten, denn sie fluoreszierten lebhaft orange. Die im Hellfeld farblos erscheinenden äußeren (also die älteren) Lagen waren dagegen auch im UV-Licht farblos. Aus diesen orientierenden Untersuchungen geht somit hervor, daß die älteren Siebröhren auch nicht in der Lage sind, die Farbbase zu speichern.

Die Tatsache, daß die jüngeren Siebröhren und das Kambium nicht nur das Farbsalz in ziegelroter Farbe, sondern auch die freie Base in wäßriger Phase speichern (orange Fluoreszenz!), weist darauf hin, daß auch deren Zellsaft bereits alkalisch ist. Wie aus den Untersuchungen von DRAWERT (1940) hervorgeht, besitzt das Neutralrot, wenn es in lipoider Phase gespeichert wird, unabhängig vom pH auch eine mennigrote Farbe (Lösungsmetachromasie). Es ist daher auf Grund dieses Farbtones des gespeicherten Farbsalzes allein nicht statthaft, auf das pH des speichernden Zellteiles zu schließen (DRAWERT & STRUGGER 1938). In unserem Falle scheint aber der Schluß wohl berechtigt, da die Speicherung der freien Base in wäßriger Phase nur bei alkalischer Reaktion möglich ist.

Nachdem durch diese vorläufigen Untersuchungen einigermaßen gesichert erscheint, daß wir tatsächlich mit einem völligen Ausfall der Färbung bei zunehmender Reifung rechnen müssen, bliebe es noch zu klären, welche chemischen oder chemisch-physikalischen Ursachen dafür ausschlaggebend sind. Wenn wir die chemische Zusammensetzung des Zellsaftes der Siebröhren betrachten, wie sie etwa Zacharias (1884), Kraus (1884), Wislicenus (1933) und Moose (1938) angeben, so fällt auf, daß neben der großen Menge von 80 und mehr Prozent Mono- und Disacchariden sowie einer verschieden großen Menge von Eiweiß[1]) in der Trockensubstanz alle anderen Stoffe weit zurücktreten. Vor allem ist der Gehalt an Gerbstoffen recht gering, bzw. es fehlen diese überhaupt. Ebenso scheinen die Lipoide sowohl im Plasma wie im Zellsaft sehr zurückzutreten. Die einzige Angabe über Fettspeicherung in Siebröhren (Czapek 1897) hat Schmidt (1917) widerlegt. Eigene Untersuchungen zeigten immer wieder, daß man mit OsO_4 nur eine ganz leichte Schwärzung des Plasmas erzielt und gar keine in der Vakuole. Vorläufige Färbungsversuche mit dem lipophilen Rhodamin B (Strugger 1938) verliefen ergebnislos, und auch die für fettreichere Zellen charakteristische blaue Eigenfluoreszenz war bei den Siebröhren nicht oder nur als leichtes Grau vorhanden. Für die genauere Analyse müßten Entmischungsversuche mit Amylenhydrat-Pyridin angestellt werden (Czapek 1919), eine Methode, die sich in der Modifikation nach Strugger (1941) dafür sehr bewähren dürfte. Doch zeigen schon die bisherigen Färbungsversuche, daß offensichtlich mit dem Reifungsprozeß der Siebröhren die Fettsäuren und neutralen Lipoide sehr zurücktreten und Protoplast und Zellsaft immer mehr hydrophilen Charakter annehmen, was bei gleichzeitiger alkalischer Reaktion von wesentlichem Ausschlag für die Nichtfärbung mit Neutralrot ist. Wissen wir doch durch die Untersuchungen von Drawert (1938, 1940), daß das Neutralrot bei alkalischer Reaktion als Molekül nur durch die lipophilen Phasen des Plasmas eintritt und auch im Zellsaft nur an Lipoide gebunden ist, vorausgesetzt, daß keine Gerbstoffe vorhanden sind, während es bei saurer Reaktion elektrostatisch an Eiweißen festgehalten und gespeichert wird. Damit scheint mir im Wesen der Ausfall der Neutralrotfärbung bei reifen Siebröhren auch chemisch-physikalisch erklärt zu sein, während umgekehrt die große Speicherfähigkeit für saure Farbstoffe und die Steigerung der Leitfähigkeit von Zucker und Eiweiß mit dem Schwinden

1) Bei den Baumsiebröhren ist meist der Eiweißgehalt im ausfließenden Saft recht gering, was sich bei refraktometrischen Untersuchungen angenehm bemerkbar machte (Huber, Schmidt u. Jahnel 1937).

der Lipoide und dem Hydrophilerwerden des Plasmas und Zellsaftes verständlich wird.

IV. Die Leitung des Kaliumfluoreszeins in den Siebröhren.

Wie Schumacher (1933, 1937) überzeugend dargelegt hat, ist den Siebröhren die spezifische Fähigkeit zur beschleunigten Leitung des Kaliumfluoreszeins und anderer saurer Farbstoffe (Aesculin) eigen. Die Geschwindigkeit der Ausbreitung im Phloëm übertrifft die einer Diffusion um das Vielfache und entspricht mit den Maximalwerten von 36 cm/Std. (bei *Pelargonium*) voll den Vorstellungen und Berechnungen über die Wanderungsgeschwindigkeit der Assimilate (Birch-Hirschfeld 1921, Dixon u. Ball 1922, Münch 1930). Damit ist erstmalig experimentell die rapide Fernleitung von Stoffen in den Siebröhren sichtbar nachgewiesen und darüber hinaus auch die Möglichkeit der genauen Erfassung der Wanderrichtung gegeben worden. Wir verdanken der Schumacherschen Arbeit nicht nur diese grundlegenden Befunde, sondern auch eine weitestgehende Analyse zahlreicher Einzelheiten, auf die unten mehrmals zurückzukommen sein wird.

Betrachten wir Längsschnitte durch das Phloëm, in dem das Kaliumfluoreszein geleitet wurde, im Fluoreszenzmikroskop, so sieht man mit einiger Übung, daß nicht nur die Färbung streng auf das Phloëm beschränkt ist, sondern daß sich durch starke Fluoreszenz allermeist wieder nur das Plasma der Phloëmelemente auszeichnet. Schumacher zog daraus den — an sich naheliegenden — Schluß, daß das Plasma auch die Leitbahn des Kaliumfluoreszeins sein müsse. Da in diesem Falle eine Massenströmung nahezu undenkbar ist, folgert er weiter, daß es sich nur um eine diffusionsartige Stoffleitung handeln kann. Bereits eingangs wurde erwähnt, daß eine normale Diffusionsleitung der Assimilate, wie sie sich Sachs (1861) noch dachte, viel zu langsam ist, um als Leitprinzip in den Siebröhren gelten zu können. Schumacher denkt an eine beschleunigte diffusionsartige Strömung. Maßgebend für diese Anschauung waren die Vorstellungen von Mason u. Phillis (1936), von Mangham (1917) und von van den Honert (1932), welche die Möglichkeit einer Diffusionsbeschleunigung aufzeigten. Wie Huber (1936, S. 181) ausführte, ist eine beschleunigte Diffusion im Sinne von Mason u. Phillis aus thermodynamischen Gründen in der Pflanze undenkbar. Da nämlich die mittlere Molekulargeschwindigkeit der Wurzel der absoluten Temperatur proportional ist, müßten die pflanzlichen Gewebe, um die nötige Beschleunigung gegen-

über der normalen Diffusion zu gewährleisten, Temperaturen von über eine Million Grad besitzen.

So bleibt nach unserem Kenntnisstand von heute einzig und allein die von Mangham u. van den Honert unabhängig beschriebene Möglichkeit einer zweidimensionalen, durch Oberflächenkräfte bedingten Molekülspreitung an Grenzflächen[1]).

Mit ihr steht und fällt im Hinblick auf die hohen Geschwindigkeiten der Assimilatleitung die Theorie einer diffusionsähnlichen Ausbreitung. Zahlreiche moderne zellphysiologische Untersuchungen weisen zwar immer mehr auf die Bedeutung der Grenzflächen als Stätten des Ablaufes von Lebensprozessen hin; auch hat van den Honert (1932) und Stroganov (1935) darauf verwiesen, daß Zucker auf Grund ihrer Oberflächenaktivität an Grenzflächen zwischen wäßrigen und lipoiden Phasen zur Wanderung an diesen befähigt wären. Es ist uns aber bis heute kein Fall bekannt, wo derartige Erscheinungen über den engbegrenzten Bereich eines Teiles der Zellen hinausgehen und uns — als analoges Beispiel — eine Stütze für die Anwendung desselben Prinzips auf die Assimilatleitung sein könnten. Im Gegenteil! bisher ist es gelungen, alle übrigen bekannten Fernleitungen im Pflanzen- und Tierkörper durch Massenströmungen zu erklären. Als klassisches Beispiel dient dem Botaniker in dieser Hinsicht die Wasserleitung in der Pflanze, deren Deutung im Sinne der Kohäsionstheoretiker erst in jüngster Zeit durch die Befunde von Strugger (1938, 1939, Rouschal u. Strugger 1940) dahin erweitert wurde, daß der faszikuläre Massenstrom sogar in den submikroskopischen Kapillaren der Parenchymmembranen fortgesetzt wird und nicht, wie man bisher annahm, auf osmotischem Weg durch den Zellinhalt geht. Freilich hinkt dieser Vergleich insofern, als wir das eine Mal die Leitbahnen aus lebenden, das andere Mal aus toten Elementen gebaut finden.

So sehr die experimentellen Ergebnisse Schumachers überzeugend sind, so schien es mir doch keineswegs gesichert, daß auch seine theoretischen Folgerungen die einzige Möglichkeit einer Erklärung für die gefundene Erscheinung darstellen. Wie schon Both (1937) und Crafts (1938) ganz richtig äußern, besteht neben der Möglichkeit einer primären Leitung des Kaliumfluoreszeins im Plasma der Siebröhren ebenso die einer lebhaften sekundären Speicherung des Farbstoffes in diesem. Die primäre Leitung geringer Konzentrationen wird in einem anderen

1) Für die Spreitung oberflächenaktiver Stoffe an der Grenzfläche Wasser—Luft haben Brinkmann u. Szent-Györgyi (1923) einen sehr anschaulichen Versuch beschrieben.

Teile (Vakuole) der Siebröhren angenommen. Ich werde auf diesen Gegenstand unten noch näher eingehen.

Ausgehend von diesem kurz angedeuteten Tatbestand schien es mir doch sehr ratsam, im Hinblick auf die weitere Unsicherheit in der Beurteilung des Prinzips der Assimilatleitung, neuerliche Versuche mit Kaliumfluoreszein anzustellen, die zur Klärung des Leitmechanismus beitragen sollten. Ich habe trotz der Bedenken SCHUMACHERS gegen die Verwendung der weiten Siebröhren von *Cucurbita* und von Bäumen nach den Einübungsversuchen an seinem Hauptobjekt *Pelargonium* diese für die genauere Analyse bevorzugt. Denn die Siebröhren von *Pelargonium* und den meisten anderen krautigen Pflanzen sind so klein und unscheinbar, daß ich sie trotz aller optimistischen Schilderungen SCHUMACHERS nicht als das geeignete Material zur Erforschung der Strömungserscheinungen ansehe. Man muß sich genau so wie seinerzeit bei der Erforschung der Tranpirationsstromes bewußt sein, daß die Beurteilung der Verhältnisse möglichst an den größten Objekten, den Bäumen, besonders günstig ist, da dadurch oft zahlreiche theoretische Möglichkeiten, die evtl. bei geringen Dimensionen noch denkbar wären, automatisch ausgeschaltet werden (HUBER 1937 a).

A. Die spezifische Leitfähigkeit des Phloëms für das Kaliumfluoreszein

a) Vorversuche mit *Pelargonium*.

In gleicher Weise wie SCHUMACHER bedeckte ich kleine basale Stellen von Blattnerven mit einer schwachgallertigen, 4—5%igen Gelatine, der Kaliumfluoreszein in Konzentrationen von 1:1000 oder 1:500 beigemengt war. Nach einer bis mehreren Stunden wurden vom Phloëm ober- und unterhalb der Farbstelle Längsschnitte hergestellt und sofort in Paraffinöl im Fluoreszenzmikroskop untersucht.

Mit Ausnahme der großen Geschwindigkeiten, die SCHUMACHER fand, konnte ich mühelos seine Ergebnisse bestätigen. SCHUMACHER gibt selbst an, daß die Strömungsgeschwindigkeit sehr schwankt; manchmal wird das Kaliumfluoreszein nur wenige cm/Std. geleitet, ein anderes Mal wieder mehrere dm/Std. Die Geschwindigkeit hängt nach SCHUMACHERS Befunden sehr von den Außenbedingungen ab. Daneben spielt aber sicher der jeweilige Verbrauch an Meristemen eine große Rolle.

Das Phloëm leitete streng spezifisch das Kaliumfluoreszein im Blattsiel abwärts, seltener gelang es, auch Blattnerv-aufwärts eine Leitung über daß Maß der durch Diffusion bedingten Leitgeschwindigkeit hinaus zu finden. Außerhalb der Bündelscheide und des Kambiforms war

keine Färbung vorhanden, es war also im Rinden- und Holzparenchym weder eine Längs- noch eine sekundäre Querleitung feststellbar.

Eine nähere Analyse, die wegen der geringen Dimensionen der Phloëmelemente nicht so leicht fällt, bestätigte zunächst, daß 1. die Siebröhren stark fluoreszieren. Sie waren, wenn auch bei weitem nicht immer, an den stärker fluoreszierenden Partien der Siebplatten von den übrigen Elementen zu unterscheiden. Außer den Siebröhren fluoreszierten aber 2. immer wieder und mindestens ebenso stark oder sogar stärker die Geleitzellen und das den Siebröhren benachbarte Parenchym. Dies war auch bei relativ kurzer Einwirkungszeit der Farbgelatine ($1—1^1/_2$ Stunden) und an der Spitze des Farbstromes der Fall.

Wie schon Schumacher berichtet und ich nach Überprüfung zahlreicher Schnitte wiederfinden konnte, ist es das Plasma der Siebröhren (aber auch der Geleit- und Parenchymzellen), das die kräftige Fluoreszenz aufweist, während Membran und Vakuole dagegen dunkel aussehen. Eine Entscheidung, ob die Vakuole wirklich kein Fluoreszein führte oder doch auch geringe Mengen desselben enthielt, vermochte ich bei objektiver Betrachtung bei diesem Objekt nicht zu fällen, denn der die Vakuole rings umgebende Plasmamantel, welcher bei *Pelargonium* im Vergleich zur Vakuole verhältnismäßig dick ist, machte mit seiner starken Fluoreszenz eine Entscheidung unmöglich. Ich habe mich daher im weiteren zur Feinanalyse der größeren, und durch eine weite Vakuole sowie einen sehr dünnen Protoplasten ausgezeichneten Siebröhren von *Cucurbita* und einigen Bäumen bedient.

b) Hauptversuche mit Kürbis- und Baumsiebröhren.

Hauptversuchsobjekte waren *Cucurbita pepo*, *Pinus silvestris* und *Picea pungens*. Daneben wurden orientierende Versuche an *Robinia* und *Populus nigra* mit Erfolg durchgeführt.

Bei den Coniferen war auch für diese Versuche die Möglichkeit geboten, vergleichende Untersuchungen im Winter und Sommer durchzuführen (vgl. S. 140 ff.).

Die Methode der Farbanbringung mittels Gelatine bewährte sich bei den großen Objekten nicht, da nicht die kleinen Siebröhren junger Triebe, sondern die weiteren des Stammes zur Untersuchung verwendet wurden. Ich bot daher den Farbstoff, wie ich schon im methodischen Teil beschrieb, in einem längshalbierten Paraffingefäß von einigen Zentimeter Höhe und ebensolcher Breite, das mit vaselinegetränkten Wattestreifen der Rinde dicht aufgesetzt wurde (Abb. 2). Die Rinde selbst wurde bis auf wenige Millimeter über der Safthaut weggeschnitten,

um ein rasches Eindringen in letztere zu gewähren. Nach Beendigung des Versuches habe ich an verschiedenen Stellen ober- und unterhalb der Farbstelle einige Zentimeter große Rindenstücke einschließlich etwas Holz herausgeschnitten und davon radiale und tangentiale Handschnitte hergestellt und sofort wieder in Paraffinum liquidum untersucht.

Die Farbausbreitung war im Winter äußerst langsam. Ich habe mehrmals die Farbe in einer 1% Konzentration drei bis fünf Tage einwirken lassen, um erst dann eine Leitung auf 8—12 cm Entfernung in apikaler wie in basaler Richtung wahrnehmen zu können. Trotzdem ist selbst in diesen Fällen der Safthaut noch eine gewisse spezifische Leitfähigkeit zuzusprechen, denn 1. war die Farbausbreitung in diesem Ausmaße nur in der Längsrichtung der Siebröhren vorhanden und fürs 2. war das Kaliumfluoreszein auch im Rindenparenchym, das noch in dünner Schicht außerhalb der Siebröhren lag und unmittelbar mit dem Farbstoff in Berührung stand, höchstens halb so weit gewandert. Besonders betonen möchte ich, daß diese winterliche Ausbreitung des Kaliumfluoreszeins in den Siebröhren sowohl nach oben wie nach unten ziemlich gleich weit erfolgte, daß also keine Polarität der Wanderung, wie wir sie in den Sommerversuchen finden werden, herrschte.

Es fragt sich, ob für diese, im Vergleich zur Ausbreitung im Rindenparenchym etwa doppelt so rasche Strömung in den Siebröhren ein spezieller Transportmechanismus gefordert werden muß oder ob wir uns derartige Geschwindigkeiten schon auf Grund anatomischer und gewisser physiologischer Eigenheiten vorstellen können. Bekanntlich zeichnen sich die Koniferensiebröhren durch die besonders große Länge von 2—3 mm aus, außerdem konnte ich — wenigstens in den Schnitten — stets eine lebhafte Plasmaströmung in den noch mäßig differenzierten Siebröhren zu diesem Zeitpunkt finden. Es ist höchstwahrscheinlich, daß eine derart geringe Transportbeschleunigung etwa auf das Doppelte durch die ungehinderte Diffusion in den langgestreckten Siebröhren erklärt werden kann, Die Streckung der leitenden Elemente wird ja schechthin als Anpassung an ihre Funktion gedeutet. Eine Förderung durch die Plasmaströmung, wie sie schon DE VRIES (1885) und in jüngster Zeit CURTIS (1935) speziell für das Siebröhrenproblem in Erwägung ziehen, wäre im obigen Ausmaße auch nicht ganz ausgeschlossen, vorausgesetzt, daß 1. nicht nur im Schnitt, sondern auch im intakten Gewebe Strömung herrscht und 2. der Farbstoff in die strömende Phase des Plasmas eindringt (vgl. SCHUMACHER 1936).

Die Annahme eines speziellen Leitmechanismus scheint mir demnach bei diesen Ausbreitungsgeschwindigkeiten unnötig. Nicht so

leicht sind dagegen die Ergebnisse von Both (1937) an blattlosen Stengelstücken von *Impatiens* zu deuten, wo eine viel raschere Strömung des Kaliumfluoreszeins nach beiden Längsrichtungen festzustellen war. Welche spezifische Ursache dafür maßgebend ist, müssen erst zukünftige Untersuchungen zeigen.

Wenden wir uns nun, nachdem wir eine spezifische Längsleitung im Phloëm gefunden haben, der näheren Analyse zu, d. h. sehen wir, welche Elemente und welche Teile derselben die Färbung zeigen.

Wie ich schon betonte, fand auch ich, daß hauptsächlich das Plasma lebhaft fluoresziert. Bei den größeren Baumsiebröhren (*Pinus*, *Picea*, *Populus*) und jenen von *Cucurbita*, aber auch bei den zarteren von *Glyceria aquatica* konnte ich mich dagegen des Eindruckes nicht erwehren, daß auch die Vakuole grün fluoresziert. Er handelt sich dabei um Siebröhren, die — im Gegensatz zu jenen von *Pelargonium* — sehr zarte Plasmawandbeläge aufweisen, welche auch nicht stärker fluoreszieren als die gesamte Vakuole. Bei diesen Versuchen ist es mir übrigens nie gelungen, eine scharfe Abgrenzung des Plasmawandbelages gegen die Vakuole festzustellen (vgl. oben S. 152), während es bei *Pelargonium* mit dem derberen Plasmamantel nicht schwer fällt. Im ersteren Falle leuchtet immer das ganze Siebröhrenlumen ohne innere Konturen mäßig auf. Es könnte nun der Einwand gemacht werden, daß es sich dabei um tote oder stark geschädigte Elemente handelt. Auch dieser Sache bin ich nachgegangen. Plasmolyseversuche fielen an solchen Siebröhren öfter positiv aus, was bereits ein hinreichendes Lebenskriterium ist. Dazu kam, daß sie bei fortgesetzter Bestrahlung mit Ultraviolett immer dunkler wurden und schon im Laufe einer Minute keine Fluoreszenz mehr zeigten. Diese Erscheinung der Fluoreszenzlöschung konnte ich bei Färbungen mit Kaliumfluoreszein in gleicher Weise bei eindeutig intakten Siebröhren mit scharf konturiertem Protoplasten finden[1]), was m. E. Rückschlüsse auf denselben Zustand der diffus gefärbten Siebröhren erlaubt.

Ein weiterer Einwand wäre, daß der gefärbte Protoplast, der ja die Vakuole ringsum bekleidet und daher auch über und unter der

1) Die Fluoreszenzlöschung machte sich äußerst unliebsam beim Photographieren bemerkbar. Schwarz-weiß-Aufnahmen waren bei den Farbversuchen recht zwecklos, da dann alle fluoreszierenden Teile (auch solche mit primärer Eigenfluoreszenz) mehr minder gleich kräftig herauskamen. Bei den Farbfilmen hinwider waren trotz der großen Lichtstärke der Apparatur noch Belichtungszeiten von 2—3 Min. nötig, während der aber immer Fluoreszenzlöschung eintrat, so daß ich bisher keine publikationsreifen Aufnahmen erzielen konnte.

Vakuole im Strahlengang liegt, die Vakuolenfärbung vortäusche. Dies ist aber hier umso weniger verständlich und unwahrscheinlich, als wir selbst bei *Pelargonium* mit der lebhaften Plasmafärbung die Vakuole immer (relativ!) dunkel ausgespart finden. Da ferner bei unseren Objekten der Protoplast überhaupt nicht durch stärkere Färbung hervortritt und dazu die Vakuole mindest die 50—100fache Dicke gegenüber dem Plasmawandbelag besitzt, ist die Vortäuschung einer Vakuolenfärbung geradezu ausgeschlossen. Schließlich sei als analoges Beispiel noch die gleiche Färbung von Parenchym und Scheidenzellen angeführt, bei denen sogar der Kern, und bei Vakuolenkontraktion, wie sie nach der Färbung im Parenchym öfter zu sehen war, auch das Plasma dunkler erschien als die Vakuole.

Wenn SCHUMACHER nie eine Vakuolenfärbung finden konnte, so mag dies gerade darin begründet sein, daß er hauptsächlich mit Material arbeitete, bei dem der Protoplast besonders stark fluoreszierte und so ein Sichtbarwerden der schwächeren Vakuolenfluoreszenz unmöglich war. SCHUMACHER fand allerdings bei *Cucurbita*, daß unmittelbar nach dem Anschneiden der Siebteile Saft ausfließt, der frei ist von jeglicher Fluoreszenz. Erst allmählich fließt farbiger Saft nach. Wenngleich es mir bei meinen zahlreichen Versuchen nicht geglückt ist, diese interessante Tatsache bestätigt finden zu können, so ist dies, wie SCHUMACHER ganz richtig auf Grund seiner Fehlschläge bei *Bryonia* sagt, noch kein Gegenbeweis. Wir können aber bei dieser Gelegenheit nicht stillschweigend an der Tatsache der sogenannten Fluoreszenzlöschung vorübergehen, ohne sie in diesem kritischen Falle mit zu erwägen.

Wie bei DANCKWORTT (1940) zusammenfassend dargestellt ist, bestehen zahlreiche Fälle, in denen die Anwesenheit bestimmter organischer oder anorganischer Stoffe zu einer Löschung der Fluoreszenz führt. Wird solches Material im UV untersucht, so ergibt sich trotz der Anwesenheit des fluoreszierenden Stoffes kein Aufleuchten. Maßgebend dafür sind wohl zum Teil chemische Veränderungen, vor allem aber auch solche der adsorptiven Bindung des Stoffes, was besonders deutlich aus Untersuchungen NOACKS (1927) über die Chlorophyllfluoreszenz bei Adsorption an verschiedene Eiweißstoffe hervorgeht. Wie NOACK berichtet, ist eine deutliche Rotfluoreszenz des Chlorophylls bei Adsorption an Globin vorhanden, fehlt jedoch, wenn an seine Stelle ein anderes Eiweiß tritt. An weiteren interessanten Beispielen seien die Löschungsergebnisse der Eosinfluoreszenz (KORTÜM 1938) sowie die fluoreszenzlöschende Wirkung verschiedener organischer Verbindungen, darunter die des zuckerverwandten Furans, genannt (EISENBRAND 1933).

Ein geradezu klassisches Beispiel führt SCHUMACHER selbst — allerdings mit anderer Auslegung — an, wenn er feststellt, daß das Kaliumfluoreszein in Kürbishaaren nur auf das lebende Protoplasma beschränkt ist und die Vakuole ganz dunkel bleibt, während es beim Abtöten auch in dieser festgestellt werden kann. (Dehnt man die Färbeversuche längere Zeit — etwa 8—12 Stunden — aus, so findet man

allerdings auch ohne Zellschädigung (lebhafte Plasmaströmung!) die ganze Vakuole leuchtend erfüllt.) Wie mir Herr Prof. Strugger auf Grund seiner Erfahrungen mitteilte, ist auch an anderen vitalgefärbten Objekten oft festzustellen, daß sie im Leben nicht fluoreszieren, wohl aber, wenn man die Zelle abtötet. Weiter muß der schon erwähnte Schwund der Fluoreszenz des Kaliumfluoreszeins im Phloëm nach UV-Bestrahlung ebenfalls als Löschung infolge irgendwelcher Umlagerungen und Umgestaltungen der Bindung in der Zelle gewertet werden, denn eine Auswanderung des Kaliumfluoreszeins etwa in das umgebende Paraffinöl ist nicht bemerkbar und auch sehr unwahrscheinlich. Nach Lepeschkin (1940) hemmt nämlich UV-Bestrahlung die Exosmose von Stoffen, wohl infolge einer Steigerung der Speicherfähigkeit.

Nach diesen Feststellungen scheint es mir sehr leicht möglich, daß bei dem eigenartigen Falle von *Cucurbita*, bei welchem die ersten Safttropfen nicht, die weiteren wohl fluoreszieren, im lebenden Zustand, ähnlich wie in den Kürbishaaren, die Fluoreszenz gelöscht ist, hingegen beim Ausfließen allmählich in Erscheinung tritt.

Kehren wir zur Ausgangsfrage der leitenden Teile der Zelle zurück. Sobald wir feststellen, daß — wenn auch nur in geringer Konzentration — Kaliumfluoreszein in der Vakuole vorkommt, dann fehlt auch der Schumacherschen Beweisführung für die Leitung des Kaliumfluoreszeins im Plasma bereits die Sicherheit. Es besteht dann vielmehr die zweite, gleichberechtigte Deutungsmöglichkeit, daß eine primäre Leitung geringer Konzentrationen in der Vakuole herrscht und erst sekundär eine laterale Einwanderung des Farbstoffes in das (elektroadsorptiv! — Strugger 1939) gierig speichernde Plasma der Siebröhren selbst sowie der Geleit- und Parenchymzellen erfolgt. Wie groß die Affinität des Plasmas zum Kaliumfluoreszein ist, scheint mir auch daraus hervorzugehen, daß eine diffuse Ausbreitung etwa in lateraler Richtung erst dann langsam erfolgt, wenn die zunächst liegenden Geleit- und Parenchymzellen völlig gesättigt sind. Nur so können wir überhaupt richtig verstehen, daß das Kaliumfluoreszein in ebenso großem Maße auch von den Geleitzellen und dem anliegenden Phloëmparenchym gespeichert wird. Wollten wir uns auf die Auslegung einer primären Wanderung in den kräftigst gefärbten Teilen (Plasma) verlegen, so müßten wir konsequenterweise den Geleit- und Parenchymzellen auch eine besondere Leitfähigkeit zumuten, ähnlich wie den Siebröhren. Daß wir aber gerade bei sauren Farbstoffen öfter eine Wanderung an anderem Orte finden als am lebhaft speichernden, an dem es erst richtig sichtbar wird, dafür liegen mehrere Befunde vor. So erwähnt Both (1937) die Erfahrungen von Arisz, daß das Kaliumfluoreszein aus den Gefäßen der *Drosera*-Tentakeln, das sie in geringster Konzentration leiten, vom Holzparenchym weggespeichert wird und dort im Plasma angehäuft zu sehen ist.

Ebenso konnte Strugger (1938) für das Kaliumfluoreszein zeigen, daß es im Parenchym nicht im Plasma, sondern primär in den Membranen wandert und erst sekundär aus diesen durch die Speicherfähigkeit des Plasmas begierig und sehr rasch in dieses aufgenommen wird. Eigene Befunde bei den Versuchen über die Strömungsumkehr im Blattstiel von *Cucurbita* (vgl. S. 176) ergaben ebenfalls, daß unter bestimmten Bedingungen der Farbstoff in geringer, selbst im Fluoreszenzmikroskop nicht mehr erkennbarer Konzentration in den Gefäßen oder in den Membranen rasch geleitet wird und sekundär im Plasma des Holzparenchyms auftritt. Die Leitung im Plasma war in diesem Falle wegen der zu großen Geschwindigkeit ganz ausgeschlossen, es handelte sich offensichtlich um eine Massenströmung, die durch den Transpirationssog ausgelöst wurde. Auch Rhodes (1937), Strugger (1938) und Crafts (1938) messen der Speicherfähigkeit des Plasmas größte Bedeutung bei. Wir sehen daraus, daß die Möglichkeit der Kaliumfluoreszeinleitung auf Grund dieses experimentellen Befundes ebenso besteht wie die von Schumacher postulierte Plasmawanderung.

Hier mag es auch am Platze sein, die Frage der Identität der Kaliumfluoreszeinleitung mit der der Assimilate zu streifen. Wie schon Huber (1933) und später Münch (1936) betonen, ist es nicht ganz selbstverständlich, daß wirklich beide Strömungen dem Prinzip nach identisch sind. Eine gewisse Bestärkung darin könnte man aus den Arbeiten von Arisz und seinen Mitarbeitern schöpfen (Oudman 1936, Arisz u. Oudman 1937 a, b, 1938, Arisz u. van Dijk 1939), die uns davon unterrichten, daß bei der Stoffleitung von Zelle zu Zelle ganz verschiedene Prinzipien und auch Wanderwege eingeschlagen werden. So dringt z. B. das Coffein durch reine Diffusion in die Vakuole ein („passive" Aufnahme) und setzt von Vakuole zu Vakuole seinen Weg fort, während die Asparaginaufnahme in Abhängigkeit von Atmungsvorgängen steht („aktive" Aufnahme) und im Plasma befördert wird. Ebenso wies kürzlich Went (1939) nach, daß in den Parenchymzellen der Avenakoleoptile die Auxine unabhängig von verschiedenen (radioaktiven) Jonen geleitet werden, d. h. daß auch dafür zwei verschiedene Prinzipien bestehen müssen.

Danach wären zwar auch in den Siebröhren verschiedene Wanderwege für die einzelnen Stoffe nicht undenkbar, Es käme aber der grundlegende Umstand hinzu, daß wir dann auch mit verschiedenen Mechanismen zur Beschleunigung rechnen müßten. Zu derartigen Komplikationen kommt man aber nur dann, wenn man die Schumachersche Beweisführung der Plasmaleitung des Kaliumfluoreszeins anerkennt und andererseits gleichzeitig die zahlreichen Befunde, die für eine Massenströmung der Assimilate in der Vakuole sprechen, erwägt. Sehen wir

dagegen von der sehr problematischen Vorstellung einer Leitung des Fluoreszeins oder gar der Assimilate im Plasma ab und kehren wir zur viel plausibleren Vorstellung der Vakuolenleitung zurück, so ist eine Annahme verschiedener Leitungsprinzipien im Falle einer Massenströmung nicht nötig und damit auch die Identität der durch ähnlich hohe Geschwindigkeiten ausgezeichneten Kaliumfluoreszein- und Assimilatleitung gegeben. Ich muß in diesem Zusammenhange allerdings noch auf zwei Punkte von Schumachers Ergebnissen näher eingehen.

1. Schumacher findet, daß das Kaliumfluoreszein mit Geschwindigkeiten von 6—36 cm/Stunde geleitet wird. Diese Werte stimmen der Größenordnung nach überein mit jenen, die durch Berechnung auf Grund von Zuwachsgrößen, Füllungen von Reservestoffbehältern, Entleerungen von Blättern (Birch-Hirschfeld 1921, Dixon u. Ball 1922, Dixon 1924, Münch 1930, Schumacher 1931, Mothes 1931) sowie durch refraktometrische Bestimmungen von Huber, Schmidt und Jahnel (1937) gefunden wurden. Den Berechnungen wurde die Konzentration des Siebröhrensaftes von 5—20 % und der gesamte Siebröhrenquerschnitt als Leitfläche zugrunde gelegt. Schumacher nimmt nun das Plasma als Leitbahn an, d. h., es kommen statt des ganzen Safthautquerschnittes nur Bruchteile desselben als leitender Querschnitt in Frage. Bei Bäumen mit etwa 50 μ weiten Siebröhren und einer Plasmadicke von wenigen Zehntel μ (vgl. auch Crafts 1938) ergäbe sich z. B. eine 10—100fach kleinere Leitfläche. Da die Leitgeschwindigkeiten und natürlich auch die geförderten Mengen gleich sind, muß Schumacher die Wanderung der Zuckermolekel ohne Wasser annehmen. Dies ist bei einer Diffusion tatsächlich der Fall. Wir dürfen aber nicht übersehen, daß mit der Beschleunigung der Diffusionsströmung die Vorstellung von der Leitung an Grenzflächen nötig wird. Der Querschnitt der Grenzflächen kann naturgemäß nur einen geringen Teil des gesamten Querschnittes ausmachen, d. h. der leitende Querschnitt würde abermals um ein Vielfaches kleiner. Ob wir auch bei Zugrundelegung dieser im Vergleich zum Vakuolenquerschnitt winzigen Leitflächen noch zu den Werten der tatsächlich geförderten Assimilatmengen kommen, ist sehr fraglich. Van den Honert glaubt allerdings, daß die Assimilatleitung auf Grund einer Spreitung an Grenzflächen denkbar wäre, obwohl er nur die kleine Leitfläche der Grenzschicht zwischen Plasma und Vakuole dafür in Erwägung zieht. Mir erscheinen in diesem Falle die gefundenen Spreitungsgeschwindigkeiten keineswegs hinreichend, um die großen Assimilattransporte zu verstehen. Die chemische Verschiedenheit der geleiteten Substanzen macht es dazu

noch sehr fraglich, ob sie alle an ein und demselben Grenzflächensystem geleitet werden können; denn sie müßten die Fähigkeit haben, die Oberflächenspannung an der Grenzfläche dieses einen Systems (z. B. Öl-Wasser) in mehr minder gleichem Maße herabzusetzen. Nur dann wäre die Gewähr einer gleichraschen und ungestörten Ableitung aller Assimilate gegeben.

2. Als weitere wichtige Kriterien für eine diffusionsähnliche Leitung sieht SCHUMACHER seine folgenden Befunde an: a) Die Fluoreszenzintensität des Kaliumfluoreszeins nimmt mit der Entfernung von der Ausgangsstelle immer mehr ab, es besteht somit ein deutliches Konzentrationsgefälle. b) Das Aesculin wird unabhängig vom Kaliumfluoreszein geleitet, wenn die beiden Stoffe nacheinander in kleinen Mengen für kurze Zeit geboten werden. c) Werden dagegen mehrere kleine Quanten von Kaliumfluoreszein hintereinander geboten, so ist eine Schiebung, d. h. eine Weiterleitung des Farbstoffes über die durch die erste Gabe bedingte Wanderstrecke zu bemerken.

Solange wir an der Vorstellung der Wanderung im Plasma festhalten, ist damit wohl kaum eine andere Erklärungsmöglichkeit gegeben, als die, daß es sich um die Erscheinungen einer Diffusion handelt. Gehen wir aber von der Plasmawanderung ab und betrachten die Sachlage vom Gesichtswinkel einer Vakuolenströmung mit sekundärer Farbspeicherung im Plasma, dann ergibt sich die Situation etwa folgendermaßen: Tritt das Kaliumfluoreszein an irgendeiner Stelle in die Siebröhren ein, so wird es mit dem vorhandenen Massenstrom in geringer Konzentration mitgeführt, aber von Anbeginn vom Plasmabelag elektrostatisch weggespeichert. Die ersten in die Siebröhren eingedrungenen Farbstoffmoleküle werden somit nicht sehr weit kommen. Da die Speicherung immer mehr verzögert wird, je reicher bereits die an die Vakuole angrenzenden Plasmaschichten mit Farbstoff versorgt sind, werden die immer neu nachgeschafften Moleküle zum Teil weiter vorwärts dringen können, um dann an entfernteren Teilen gespeichert zu werden. Daß dabei der Zustand resultieren wird, daß in der Nähe des Ausgangsortes viel, mit zunehmender Entfernung aber immer weniger Farbstoff im Plasma vorhanden sein wird und entsprechend die Fluoreszenz immer mehr abflaut, ist verständlich. Das Konzentrationsgefälle kann somit auch auf diese Weise entstehen. Gehen wir weiter. Biete ich abwechselnd kleine Mengen Kaliumfluoreszein und Aesculin, so wird im Prinzip mit jedem Stoff dasselbe passieren, was ich eben für das Kaliumfluoreszein beschrieben habe: Wanderung und seitliche Einwanderung in das Plasma. Daß dabei keine Konkurrenz der beiden

Stoffe in einem Maße eintreten kann, in dem der zweitgebotene vielleicht den ersten verdrängen würde, ist bei der gleichartigen elektrostatischen Bindung der beiden sauren Farbstoffe am Eiweißkomplex nicht gut denkbar. Dementsprechend werden die beiden auch ganz unabhängig an verschiedenen Stellen des Siebröhrensystems aufscheinen, je nachdem wie weit jeder von ihnen primär in der Vakuole gewandert ist. Die Unabhängigkeit der „Wanderung" der beiden Stoffe ist demnach auch kein Beweis gegen eine Massenströmung (vgl. Strugger 1938, S. 298).

Wenn wir von einer Massenströmung aller Stoffe auf Grund des gemeinsamen osmotischen Gefälles sprechen (Münch), müssen wir naturgemäß annehmen, daß jeweils die einzelnen Stoffe von den umgebenden Zellen nach Bedarf aus den Leitbahnen genommen werden, ebenso wie es bei der Stoffversorgung im tierischen Körper durch das Blut der Fall ist bzw. bei der Versorgung der Pflanze mit mineralischen Substanzen durch den Transpirationsstrom (Rouschal u. Strugger 1940). Die unabhängige Speicherung des Kaliumfluoreszeins und des Aesculins durch das Siebröhrenplasma bzw. durch die benachbarten Parenchymzellen kann geradezu als Paradebeispiel für diese Auffassung gelten.

Münch bezweifelt in einer Besprechung der Schumacherschen Ergebnisse (Ztschr. f. Bot. **30**, 63, 1936) die Identität der Kaliumfluoreszeinleitung mit der der Assimilate deshalb, weil das Aesculin, das auch wandert, ganz andere Geschwindigkeiten zeigt, also kein Grund besteht, ausgerechnet das Kaliumfluoreszein für „den" Modellstoff zu halten. Nach unseren Vorstellungen einer Vakuolenströmung und sekundären Plasmaspeicherung ist aber doch die Identität selbst mit dem langsamer strömenden Aesculin — dem Prinzip nach! — nicht von der Hand zu weisen. Denn nunmehr wird jeder Stoff nach Eintrittsmenge und Affinität zum speichernden Plasma bald rascher, bald langsamer „strömen". Was also nicht übereinstimmen muß, ist die Geschwindigkeit! Der Assimilatstrom würde wahrscheinlich so schnell gehen wie der rascheste Farbstoff (etwa das Kaliumfluoreszein), ja eventuell sogar ein bißchen schneller. — Zu diesem Einwand kommt noch, daß die Blaufärbung des Aesculins sicher erst später erkennbar ist als die Grünfluoreszenz des Kaliumfluoreszeins, da ja auch das Plasma öfter schwach blaugrau leuchtet (der letztere Farbton ist zwar von dem des Aesculins recht verschieden, was aber in sehr geringer Konzentration nur schwer feststellbar ist).

Schließlich bereitet auf dieser Grundlage auch die Erklärung einer „Schiebung" getrennt hintereinandergebotener Kaliumfluoreszeinmengen keine Schwierigkeiten. Die erste kleine Rate wird vom Plasma der nächst gelegenen Zone gespeichert, die nachfolgende ebenfalls zum Teil, zum anderen Teil dringt sie etwas weiter vorwärts und wird hier abgebunden, kurzum, die vorderste Grenze der Anfärbung wird immer weiter vorgetragen, je öfter und damit je mehr und länger ich den Farbstoff biete.

Auf diese Weise sehen wir zu Schumachers Vorstellung eine zweite gleichberechtigte treten, die den gesamten von Schumacher detaillierten Färbungsvorgang ebenso gut auch auf Grund einer Massenströmung verstehen läßt.

Fassen wir die Grundgedanken dieser theoretischen Erörterungen nochmals kurz zusammen, so lassen sich, wenn wir an Stelle der Schumacherschen primären Stoffleitung eine primäre Massenströmung in der Vakuole entgegensetzen, folgende Punkte herausstellen:

1. Starke Fluoreszenz des Plasmas, geringe der Vakuole: Primäre Vakuolenleitung in geringer Konzentration (dazu evtl. Fluoreszenzlöschung), sekundäre Speicherung im Plasma.

2. Wandergeschwindigkeit und geförderte Assimilatmengen: der geringe Leitungsquerschnitt, der sich im Falle einer Spreitung an Grenzflächen ergeben würde, dürfte wohl kaum für die reelle Assimilatleitung hinreichen. Eine gleichrasche Massenströmung im gesamten Vakuolen- (bzw. Plasmodesmen-) Querschnitt genügt dagegen sicher.

3. Konzentrationsgefälle des Farbstoffes von der Quelle weg bei kurzfristiger Gabe: = eine Folge des sekundären Speicherungsvorganges des Plasmas.

4. Gegenseitige „Schiebung" zweier aufeinanderfolgender Kaliumfluoreszeingaben, resp. unabhängige Wanderung des Kaliumfluoreszeins und des Aesculins: ebenfalls auf Grund der Vakuolen-Primärleitung und der sekundären Plasmaspeicherung erklärbar.

B. Die Wanderrichtung des Kaliumfluoreszeins in den Siebröhren.

a) Die Polarität der Strömung.

Ich gehe erneut von den Verhältnissen der Coniferen aus, allerdings nunmehr im Hochsommer. Ich bot *Pinus* und *Picea* in gleicher Weise wie im Winter (vgl. S. 163) eine Kaliumfluoreszeinlösung in aqua dest. (1:100) am Stamme und ließ es 6—24 Stunden einwirken. Nachher schnitt ich, unmittelbar ober- und unterhalb der Farbstelle beginnend, einige 2 cm breite Safthautbezirke heraus (vgl. Abb. 2) und untersuchte wieder Handschnitte im Paraffinöl unter dem Fluoreszenzmikroskop. Das Bild, das sich bot, war nunmehr ein ganz anderes als im Winter. Auch nach 24 Stunden konnte ich 2—4 cm stammaufwärts nichts von der Farbe finden, während sie stammabwärts noch in 30 cm Entfernung mit freiem Auge in der intakten Safthaut zu erkennen war. Die mikroskopische Beobachtung ergab dann noch weiter abwärts eine lebhafte Anfärbung der Siebröhren und des Phloëmparenchyms. Interessant war, daß selbst auch in dieser Entfernung der Farbstoffstrom ungefähr gleich breit war wie das Paraffinschälchen, in dem der Farbstoff geboten wurde.

Wir erkennen somit, daß im Hochsommer zur Zeit lebhafter Assimilatleitung in den Stämmen der Coniferen eine typisch polare Abwärtswanderung des Kaliumfluoreszeins stattfindet, während nach

oben bloß eine durch gewöhnliche Diffusion bedingte Ausbreitung erfolgt und ein seitliches Abwandern kaum in Erscheinung tritt. Im speziellen ergeben sich die gleichen Verhältnisse, wie ich sie schon im vorausgehenden Abschnitt skizziert habe. Ausführlicher müssen wir nunmehr auf die Versuche mit *Cucurbita* und *Lagenaria* eingehen, mit denen besonders zahlreiche, vielfach variierte Versuche angestellt wurden.

Nach unserer Vorstellung, daß die Stoffe dorthin wandern, wo sie verbraucht werden, also zu den Speicherzellen, wachsenden Trieben, Wurzeln und Früchten, müssen wir in bestimmten Teilen der Pflanze ganz bestimmte Hauptströmungsrichtungen fordern. Die Bäume, die ihre Reserven in Rinde und Holz des Stammes und der Wurzel über den Winter aufspeichern, um im folgenden Jahre die nötigen Reserven für die Neubildung der Blätter und für das Dickenwachstum auswerfen zu können, zeigen dort, wie es schon von Th. Hartig erkannt wurde, einen absteigenden Saftstrom. Krautige Pflanzen, die vielfach einen Hauptteil frischerzeugter Assimilate wachsenden Organen zum unmittelbaren Verbrauch zuführen, werden ein viel bunteres Bild bieten, als die Bäume im Hochsommer, die ihr Wachstum im selben Jahre zum Großteil bereits eingestellt haben. Aber auch die Kräuter werden in bestimmten Teilen ziemlich stetige Richtungen aufweisen müssen, so z. B. Blattstiel abwärts, Fruchtstiel, Triebspitzen aufwärts usw. Zum Studium der Assimilatleitung erschienen mir deshalb gerade solche Stellen mit ziemlich fixer Strömungsrichtung besonders geeignet. Sollte die Kaliumfluoreszeinleitung mit der der Assimilate einigermaßen identisch sein, so müßte wenigstens der gleiche Weg eingeschlagen werden. In dieser Hinsicht liegen nun von Schumacher schon sehr bemerkenswerte Ergebnisse vor, die wir kurz als polar zu Verbrauchsorten bzw. von Erzeugungsorten gehende Strömungen zusammenfassen können. Da Schumacher vielfach an ausgewachsenen Stengelabschnitten arbeitet, die selbst keine wesentliche Stoffversorgung mehr erfahren, wohl aber die Verbindungsglieder zwischen den assimilatproduzierenden Blättern und verbrauchenden meristematischen Zonen sind, kam häufig ein Wechsel in der Strömungsrichtung zustande, dessen Ursache nicht leicht erkennbar war. Ich habe aus diesem Grunde meine Hauptversuche nur mit jungen, im Streckungswachstum befindlichen Trieben, mit Stielen wachsender Früchte und mit Stielen assimilierender Blätter durchgeführt. Ich stelle voraus, daß ich auch tatsächlich bei sämtlichen der vielen Versuche in allen drei Fällen immer wieder dieselbe Strömungsrichtung erzielte: Trieb- und Fruchtstiel aufwärts, Blattstiel abwärts. Betrachten wir die Fälle im einzelnen etwas näher.

Bot ich jungen Kürbis-Triebspitzen mit der Dochtmethode den Farbstoff (s. Abb. 1) und wartete einige bis mehrere Stunden zu, so fand ich an Längsschnitten durch die Gefäßbündel stets mit voller Sicherheit den Farbstoff bis in die Triebspitze vorgedrungen. Sowohl das Außen- wie das Innenphloëm fluoreszierte lebhaft grün, so daß sich scharfe Kontraste gegen die blutrote Chlorophyllfluoreszenz des Parenchyms ergaben. In basaler Richtung von der Farbquelle an war dagegen auch nach 12- und 24stündiger Dauer des Versuches der Farbstoff nicht weiter als 2—3 cm in den faszikulären Siebröhren zu finden, in weiterer Entfernung fehlte jegliche Spur des Farbstoffes. Der faszikuläre Strom ist somit streng polar zur meristematischen Triebspitze gerichtet. Anders verhielten sich die feinen Züge der extrafaszikulären oder peripheren (ekto- und entozyklischen) Siebröhren, wie sie A. Fischer (1884) nennt (Abb. 3 und 4). Sie wiesen immer eine vom faszikulären Hauptstrom unabhängige Richtung auf, indem sie auch in basaler und zentrifugaler Richtung leiteten. Wurde der Farbstoff an relativ sehr jungen Internodien, die etwa ein Viertel der Länge

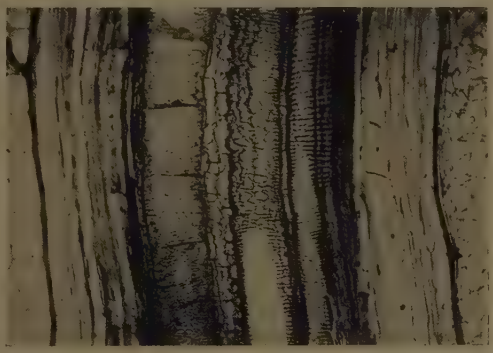


Abb. 3. *Cucurbita pepo*, Gefäßbündel eines jungen, im Streckungswachstum befindlichen Sprosses, radial (Vergr. 263mal). Außerhalb der faszikulären Siebteile die mit Anilinblau stark färbbaren (eiweißreichen) „entozyklischen" Siebröhren. Links oben zweigt eine Kommissur zu den peripheren Zügen ab.

Abb. 4. *Cucurbita pepo*, junger Sproß radial (Vergr. etwa 376fach). Periphere, knapp unterm Versteifungsring laufende, extrafaszikuläre (entozyklische) Siebröhren. Linker Rand = Epidermis, dunkle Partie Mitte = Mechanischer Ring.

ausgewachsener erreicht hatten, geboten, so war überhaupt nur eine Abwärtsleitung in ihnen festzustellen. Die Feinheit ihrer Siebporen und der größere Reichtum an Eiweiß in der Vakuole bedingt es, daß sie stabiler sind als die weiten faszikulären Siebröhren. So kann man an geeigneten Schnitten ganze Züge mit smaragdgrüner Fluoreszenz finden, die ihren Ausgangspunkt an den peripheren Bündelsiebröhren nehmen und durch Kommissuren mit den peripheren längsgerichteten extrafaszikulären Zügen in Verbindung stehen. Wie A. Fischer auf Grund seiner anatomischen Untersuchungen feststellte, sind diese Siebröhren nur in der ameristischen, d. h. Streckungszone des Stengels tätig, im ausgewachsenen Sproß sind sie dagegen kollabiert. Die Kaliumfluoreszeinversuche brachten den experimentellen Beweis für diese Auffassung. Es sei schon jetzt bemerkt, daß wir dieser unabhängigen Strömung in den faszikulären und extrafaszikulären Siebröhren eine große theoretische Bedeutung beizumessen haben, denn wir haben hier erstmalig ein Beispiel vor uns, das die Möglichkeit entgegengesetzter Stoffströme in verschiedenen Teilen des Leitungssystemes aufzeigt. Sie darf so als Schlüssel für die (auf Grund der Massenströmung bisher recht unverständliche)Erscheinung gleichzeitiger, entgegengesetzter Strömungen verschiedener Komponenten (Phillis u. Mason 1936, Mason, Maskell u. Phillis 1936, Fischer 1936, Palmquist 1938) angesehen werden. Die abwärtsführende Stromrichtung der extrafaszikulären Siebröhren in der Streckungszone ist auch insofern von Interesse, weil hier die Möglichkeit gegeben sein könnte, daß Stoffe, die im meristematischen Gewebe gebildet werden — ich denke etwa an Wuchsstoffe und andere Hormone — rasch zu den sich streckenden Zellen hingeleitet werden.

In diesem Zusammenhange sei auf einige Bemerkungen Döpps (1939) kurz eingegangen. Döpp wirft die Frage auf, ob diese peripheren Siebröhren überhaupt funktionstüchtig sind. Wie wir ersehen, haben die Kaliumfluoreszeinversuche die Vermutungen A. Fischers für die ameristische Streckungszone voll bestätigt. Ebenso scheint mir die Skepsis, die Döpp dem Saftausfluß dieser und der faszikulären Primanen entgegenbringt, unbegründet (S. 695—697). Die Frage, ob die Ausscheidung an Schnitten wirklich aus fertigen Siebröhren kommt, scheint mir durch die Lokalisationsversuche von Huber und Rouschal an Baumsiebröhren hinreichend bestätigt. Schumacher (1940) unterschätzt m. E. diese Lokalisierungsversuche, wenn er „. . . von ‚ungefähr' in dieser Gegend liegenden Siebröhren . . ." schreibt. Das exakte Studium der Einschnittiefen in die streng gegliederte Safthaut von *Robinia* und *Tilia* gestatten eine äußerst genaue Lokalisation des Saftflusses.

Wenn mehrere Minuten nach dem Einschneiden nur die peripheren Siebröhren noch Saftfluß zeigen (Crafts 1936, Döpp 1939), so ist das durch die anatomischen Unterschiede dieser engen peripheren und der weiten, großporigen Sekundärsiebröhren auf Grund der mathematischen Behandlung des Saftausflusses durch Frey-Wyssling (1933, S. 282) voll verständlich. Im Falle der weiten Siebröhren von

Cucurbita haben wir das Beispiel (wie bei weiten Baumsiebröhren) einer jähen elastischen Entleerung, die ohne Nachströmung bleibt. Bei den engen, feinporigen Primanen und extrafaszikulären Siebröhren besteht dagegen die langanhaltende Ausströmung aus langen Kapillaren im Sinne des Poisseuilleschen Gesetzes, bei denen die größeren Reibungskräfte ein rasches Ausströmen verhindern. Diese langsame Ausströmung der feineren Siebröhren, die bei geeignetem Verfahren minutenlang, ja sogar stundenlang anhalten kann (CRAFTS 1933, 1936), scheint mir gleichzeitig ein nicht zu unterschätzender Beweis, daß nicht alle Saftausflüsse unbedingt pathologischer Natur sein müssen, d. h. durch die Zerstörung der Protoplasmabeläge bedingt werden (SCHUMACHER 1937).

Wie an den jungen Sproßenden konnte auch an Fruchtstielen (neben *Cucurbita* verwendete ich vorwiegend eine *Lagenaria*-Art) die Beobachtung gemacht werden, daß die Fernleitung des Kaliumfluoreszeins nur polar zur Verbrauchsstelle, d. h. in diesem Falle in die Frucht, gerichtet war. Nach einigen Stunden konnte der Strom in apikaler Richtung bis in die entferntesten Teile der jungen Früchte wiedergefunden werden und zwar in allen faszikulären Phloëmteilen. In der Frucht selbst war eine primäre Hauptleitung in den zahlreichen subepidermalen Bündeln feststellbar, dann aber auch in den zentrifugalen Zuleitungen zu den Samenanlagen, die vom Zentralstrang ausgehen. In basaler Richtung von der Farbquelle fand sich der Farbstoff in den Bündeln nur 1—2 cm weit, genau so wie im Rindenparenchym auch. Nur die extrafaszikulären Siebröhren leiteten den Farbstoff bis an die Basis des Fruchtstieles, während sie in apikaler Richtung keine Anfärbung zeigten. Ihre Leitung ist demnach im Stiel junger Früchte wieder dem faszikulären Hauptstrom entgegengesetzt.

Als dritte Versuchsserie ist schließlich die mit Stielen erwachsener Blätter anzuführen. Wie schon SCHUMACHER bei *Pelargonium*, ebenso auch bei *Cucurbita* und anderen Objekten fand, ist die Strömung im Blattstiel nahezu ausnahmslos von der Spreite abwärts gerichtet. Meine eigenen Versuche konnten diese Tatsache nur bestätigen. Nie fand ich im Außen- wie Innenphloëm der Stiele erwachsener *Cucurbita*blätter eine apikale Strömungsrichtung, sie war immer polar nach abwärts gerichtet. Die extrafaszikulären Siebröhren, die, wie A. FISCHER nachwies, im Blattstiel als sekundäre Bildungen auch im fertigen Zustande vorhanden sind, waren im ausgewachsenen Blatt ebenfalls funktionstüchtig; ich konnte wieder sowohl in zentrifugaler wie in basaler Richtung fluoreszierende Stränge finden.

Neben diesem einen Falle, daß in apikaler Richtung im Blattstiel weder im Phloëm noch in irgendeinem anderen Gewebe eine Leitung des Kaliumfluoreszeins zu finden war, kam ziemlich oft ein zweiter Fall vor, wobei neben der üblichen basalgerichteten Phloëmströmung

eine apikale Holzleitung auftrat. Der Farbstoff wurde apikal vom Holzparenchym und vom Kambium gespeichert. Ursprünglich dachte ich, daß Verletzungen der Leitbahnen dafür verantwortlich zu machen wären, doch konnte ich mich bald eines anderen überzeugen. War tatsächlich einmal beim oberflächlichen Abschaben der Epidermis durch Ungeschicklichkeit eine stärkere Verletzung vorgekommen, die auch ein Gefäßbündel in Mitleidenschaft zog, so war infolge des freien Farbzutrittes das Bündel in apikaler Richtung durch den starken Transpirationssog völlig überschwemmt, und Einzelheiten waren wegen der starken Fluoreszenz überhaupt nicht erkennbar. Ganz anders im obigen Falle: die Gefäßlumina und -wände waren frei vom Farbstoff, und nur das Holzparenchym und das Kambium fluoreszierte. Dazu kommt der wesentliche Befund, daß basal von der Farbstelle die gleichen Bündel eine normale Phloëm-, aber keine Holzfärbung zeigten; d. h. also, unter der Farbstelle fand sich reine Phloëmleitung, oberhalb dagegen Holzleitung. Eine Erklärung ist m. E. nur so möglich, daß der mächtige Transpirationssog, wie er durch die großen, viel Wasser verdunstenden Blattspreiten an schönen Tagen zustande kam, eine Einströmung des Farbstoffes ins Holz in geringen Konzentrationen erzwungen hat (wie ich im vergangenen Jahre, Rouschal 1940, an *Lagenaria*blattstielen fand, tritt in diesen bei lebhafter Transpiration eine Strömungsgeschwindigkeit bis zu 50 m/Stunde und darüber hinaus auf!). Da der Farbstoff nur im Plasma der lebenden Zellen wiederzufinden war, konnte nicht entschieden werden, wo die primäre Zuleitung erfolgte, in den Parenchymmembranen oder in den Gefäßlumina. Auf Grund verschiedener Einzelheiten, auf die ich hier nicht weiter eingehen will, scheint mir letzteres der Fall zu sein. Es müßten diesbezügliche Versuche mit Gefäßverstopfungen o. a. durchgeführt werden, um ein klares Ergebnis herbeizuführen. Für unsere Fragestellung ist es aber im Wesen gleichgültig, wo die Leitung im Holz erfolgt. Viel wichtiger erscheint mir der Befund im Hinblick auf die Möglichkeit, daß gelegentlich eine „Stoff-Umleitung" aus dem Parenchym resp. Phloëm in den Holzkörper stattfinden kann und dann die Stoffe mit dem Transpirationsstrom mitgeführt werden. Auf diese Weise mag vielleicht doch noch der eine oder andere zweifelhafte Fall der Stoffleitung eine einfache Erklärung finden.

b) Die künstliche Umkehr der Strömungsrichtung.

Wie ich bereits eingangs dieses Kapitels (VI) ausführte, schien mir die Beweisführung Schumachers an Hand seiner Kaliumfluoreszeinversuche keineswegs zwingend, daß der Farbstoff im Protoplasma

der Siebröhren durch eine diffusionsähnliche Mechanik geleitet werden muß. Dazu kommt der eben besprochene, schon von SCHUMACHER im vollen Umfang erkannte Tatbestand einer polaren Leitung. Auch BOTH stellte die Polarität für beblätterte Systeme fest, findet aber andererseits bei blattlosen Stengelstücken eine beidseitig gerichtete Ausbreitung, und, wie oben (S. 163) bereits berichtet, konnte auch ich eine apolare Ausbreitung des Kaliumfluoreszeins bei den Winterversuchen mit Coniferen beobachten. Die Polarität ist also nicht irgendwie durch die Konstitution der Siebröhren fixiert, was im übrigen früher schon von verschiedener Seite (vgl. MÜNCH, S. 137) behauptet und neuerlich von CURTIS, SCHUMACHER, ENGARD (1939) und LEONARD (1939) infolge gelegentlicher Änderung der Leitrichtung festgestellt wurde. Besonders klar sind in dieser Hinsicht die Ergebnisse von ENGARD und LEONARD. ENGARD zeigte, daß beim Frühjahrstrieb der Himbeersprosse die Stoffströmung vom Wurzelstock aufwärts, beim reifen Sproß die Strömung von den Blättern abwärts erfolgt. LEONARD findet in grünen Blättern der Zuckerrübe eine Abwärtsleitung, in etiolierten dagegen Aufwärtsleitung des Zuckers. Immer wieder finden wir somit, daß der Strom nur soweit polar ist, als er zu den verbrauchenden Organen gerichtet ist. Die alte, etwas zu starre Ansicht vom absteigenden Saftstrom hat HUBER (1937 a) bereits kritisiert; SCHUMACHER stellt die Ansicht vom absteigenden Saftstrom zu starr und viel zu sehr im HARTIGschen Sinne dar. Daß bald von der einen Stelle, bald von der anderen mehr verbraucht wird und so kurzfristige Änderungen der Strömungsrichtung zustande kommen können, ist m. E. nicht verwunderlich, während SCHUMACHER betont von „rätselhaften Umschaltungen" usw. spricht.

Es ist nun als grundlegend wichtige Tatsache zu beachten, daß bei den Kaliumfluoreszeinversuchen die höchste Konzentration des Farbstoffes naturgemäß dort besteht, wo man ihn an die Pflanzen heranbringt, also an einer beliebigen Stelle des Sprosses, des Fruchtstieles, des Blattstieles usw. Bei einer Diffusion müßte die Ausbreitung des Farbstoffes entsprechend dem Konzentrationsgefälle unbedingt von diesem Punkte nach beiden Richtungen der Siebröhren hin erfolgen. Die vorhandene Polarität kann daher mit einer Diffusionsströmung an sich nicht erklärt werden. In diesem Zusammenhange ist es interessant festzustellen, daß ursprünglich der geistige Anstoß zur Aufstellung der Theorie der Diffusionsströmung in den Siebröhren (SACHS 1863) gerade darin lag, daß man in der freien und unabhängigen Wanderung jedes einzelnen Stoffes entsprechend seinem Partialdruckgefälle das

ordnende Prinzip für die Stoffverteilung sah, eine Anschauung, die sogar bei FISCHER (1936) noch einmal auftaucht. Im Falle des Kaliumfluoreszeinversuches sehen wir nun gerade dieses A und O der Diffusion nicht verwirklicht. Es bestünde dann nur die Möglichkeit einer polaren Strömung 1. auf Grund eines elektrischen Potentialgefälles (ähnlich wie es WENT [1932], VAN DER WEIJ [1932] usw. für die einseitige Wuchsstoffwanderung in der Avenakoleoptile annehmen); oder aber 2. — wenn wir den beschleunigenden Mechanismus im Sinne VAN DEN HONERTS in Betracht ziehen — durch Aufrechterhaltung der Oberflächenspannung an den zur Leitung bestimmten Grenzflächen. Bedeutend einfacher gestalten sich die Dinge, wenn wir an Stelle der Diffusionshypothese die der Massenströmung setzen. In diesem Falle wäre die Situation so, daß das Kaliumfluoreszein durch Diffusion bis in die Vakuole langsam eindringt und dort durch den an sich herrschenden Massenassimilatstrom nach der einen Seite mitgerissen würde. Eine Ausbreitung nach der anderen Richtung käme dann nur durch gewöhnliche Diffusion zustande, d. h., die Ausbreitungsstrecke wäre dorthin nur ganz gering, eine Tatsache, die ich bei den Coniferen und bei *Cucurbita* immer, der geschilderten Weise entsprechend, wiederfinden konnte. Von diesem Standpunkt der Massenströmung ist somit die Ausbreitung des Farbstoffes eine völlig passive Erscheinung; irgendwelche komplizierte Mechanismen zur einseitigen beschleunigten Förderung sind ganz und gar überflüssig. Wenngleich gerade in dieser Einfachheit schon eine große Wahrscheinlichkeit der Anwendung liegen mag, so ist es noch immer kein Beweis. Für den Fall aber, daß es gelingt, die Kaliumfluoreszeinausbreitung in die andere Richtung zu lenken, indem wir osmotisch den Assimilatstrom zur Umkehr zwingen, wäre der Beweis sicher erbracht, daß es sich tatsächlich um eine Massenströmung handelt.

Nach unserer Vorstellung wird ja die Massenströmung durch einen osmotischen Druck am Ausgangspunkt (Blätter) oder aber durch eine Kombination dieses Druckes mit einer Saugung am Verbrauchsort (MÜNCH, FREY-WYSSLING) ausgelöst. Jedenfalls herrscht in der Richtung vom Ausgangsort zum Verbrauchsort ein Druckgefälle. Dieses müßte man umkehren, um Assimilatstrom und Farbstrom ebenfalls in die verkehrte Richtung zu zwingen. Ich habe dazu Versuche mit jungen Trieben, Fruchtstielen und Blattstielen vom Kürbis angestellt, wo ich der polaren Leitung absolut sicher war. Die Farbe wurde in der gleichen Weise geboten wie bei den einfachen Strömungsuntersuchungen. Weiter entfernt vom Verbrauchsort als die Farbe wurde aber nunmehr

ein osmotischer Sog an die Siebröhren angelegt, der diese zum Erschlaffen brachte und damit den osmotischen Druck in ihnen aufhob. Praktisch ging ich dabei so vor, daß ich mit einer feinausgezogenen Pipette zwischen den Gefäßbündeln durch das Grundgewebe des Kürbisstengels (oder Blattstieles) einstach und einige ccm konzentriertes Glyzerin in die Zentralhöhle injizierte (Abb. 5 u. 6). Ich wählte dabei solche Sprosse, die etwa 35—45 cm unter der Farbstelle einen Knoten oder eine Biegung aufwiesen, so daß sich an dieser Stelle das Glyzerin

Abb. 5. *Cucurbito pepo*, Methode zur Umkehr des Kaliumfluoreszein-Assimilatstromes im jungen Sproß. Im Röhrchen das Kaliumfluoreszein, an der basalen Biegung die Injektionsstelle des Glyzerins (↓). Das erste Blatt oberhalb derselben durch den künstlichen osmotischen Sog des Glyzerins etwas gewelkt und daher überhängend.

ansammelte und auf einige Zentimeter Länge die gesamte Zentralhöhle ausfüllte. Schon nach ein bis zwei Stunden wurde das ganze Gewebe an dieser Stelle infolge des Turgorverlustes weich und schlaff. Trotz der osmotisch wirksamen Substanzen des Siebröhrenzellsaftes war dadurch die Spannung der Zellwände als das treibende Moment des Stromes durch den stärkeren künstlichen Außensog genommen. Nunmehr müßte eine Massenströmung mit dem eingewanderten Kaliumfluoreszein in basaler Richtung gehen. Schon die ersten Versuche mit Triebspitzen, denen sogar erst etwas später Glyzerin injiziert wurde als das Kaliumfluoreszein, brachten im Wesen eine volle Bestätigung der Erwartung. Während das Kaliumfluoreszein vor der Glyzeringabe Zeit

hatte, mit dem normalen Assimilationsstrom noch aufwärts zu strömen und bis zu 10 cm oberhalb der Farbstelle wiedergefunden wurde, war dann — im völligen Gegensatz zu allen bisherigen Versuchen sowie den parallelgeführten Kontrollen — auch sproßabwärts bis auf 25 cm Entfernung das faszikuläre Innen- und Außenphloëm streng spezifisch vom Kaliumfluoreszein erfüllt. Eine Strömung im Holz war nie festzustellen, denn das Holzparenchym, das Kambium und die jungen Siebröhren, die doch dann in erster Linie den Farbstoff wegspeichern müßten, waren völlig frei von Sekundärfluoreszenz. Zahlreiche Wiederholungen der Versuche, bei denen Farbstoff und Glyzerin gleichzeitig geboten wurde, brachten dann noch soweit eine Verbesserung, daß allermeist der Farbstoff aufwärts nur im Ausmaße der Diffusionsausbreitung auf 1—5 cm (je nach Versuchsdauer) anstieg, während er in basaler Richtung bis zur Sogstelle in 35 cm Abstand wahrzunehmen war. Wenn gelegentlich trotz gleicher Farb- und Glyzeringabe eine Aufwärtswanderung bis zu etwa 10 cm zu beobachten war, so glaube ich die Ursache darin sehen zu müssen, daß zwischen Sogstelle und wachsender Spitze (als den beiden Stellen mit dem geringsten effektiven osmotischen Druck) irgendwo ein maximaler Scheitelwert des Turgors liegen mußte, solange sich der basale künstliche Sog nicht bis zur Spitze fortgesetzt

Abb. 6. *Cucurbita pepo*, Methode zur Umkehr des Kaliumfluoreszein-Assimilatstromes im Stiel eines vollentwickelten Blattes. Nunmehr liegt die Farbstelle basal von der Injektionsstelle (der künstliche Sog erfolgt in apikaler Richtung!). Von der Einstichstelle bis zur Spreite Blattstiel erschlafft und senkrecht abwärts gerichtet. Blattspreite etwas gewelkt.

hat und eine völlige Umkehr des osmotischen Gefälles herbeiführte. War dieser Scheitelwert mehr minder mit der Lage der Farbstelle zusammengefallen, so mußte gleichermaßen wie von einer Wasserscheide ein Teilstrom basal, der andere apikal wandern, solange, bis die völlige Druckumkehr erreicht war. (Ein Zurückströmen des einmal apikal gewanderten Farbstoffes ist wegen der Sekundärspeicherung im Plasma naturgemäß nicht mehr möglich). Außer dieser Möglichkeit besteht noch eine zweite darin, daß das saugende Glycerin durch die Wasserzufuhr von den Gefäßen her immer mehr verwässert wird und so allmählich der natürliche Sog an der gegenüberliegenden Richtung wieder die Oberhand gewinnen kann.

Die Versuche an Fruchtstielen gelangen, wenn auch nicht einheitlich, so doch des öfteren, ebenso wie die besten Versuche mit jungen Triebspitzen; mindest aber war neben der apikalen Strömung eine basale auch vorhanden, was bei den Kontrollen (außer in den extrafaszikulären Siebröhren) niemals vorkam.

Auffällig gestalteten sich die Verhältnisse in den Blattstielen. Methodisch ist vorauszuschicken, daß nunmehr die natürliche, polare Wanderung von der Blattspreite stielabwärts erfolgte, der Sog mußte daher im apikalsten Blattstielteil angesetzt werden, die Farbstelle dagegen mehr basal (Abb. 6). Es gelang hier am allerschwersten, eine korrekte Umkehr, bei der nur eine apikale Strömung (zum Erzeugungsort hin) auftreten müßte, zu erzielen.

Wie die Erschlaffung des injizierten Blattstieles sowie auch das leichte Anwelken der Blattspreite zeigte, war der Turgor im apikalen Teil des Blattstieles sicher ausgeschaltet. Trotzdem gelang es nur bei einem Teil der Versuche, im Außenphloëm eine einwandfreie Umkehr zu erzielen. Das Innenphloëm war aber aus mir bisher unbekannten Gründen noch viel schwieriger zu beeinflussen. Es leitete trotz Gegensog und Stromumkehr im Außenphloëm allermeist in basaler Richtung weiter, genau so wie bei den Kontrollen. Der Versuch einer Deutung dieses Verhaltens würde vorläufig über Vermutungen nicht hinausführen.

Neben diesem einen Falle trat häufig der zweite in Erscheinung, daß das Innenphloëm wie bei den Kontrollen abwärts leitete, dagegen nach aufwärts die schon oben bei den einfachen Strömungsversuchen beschriebene Anfärbung des Holzes vom äußeren Phloëm her erfolgte. Ich habe bereits oben eine Erklärung dafür zu geben versucht, indem ich den starken Transpirationssog als die Ursache der Stoffstromüberleitung verantwortlich machte. Es ist klar, daß in dem Falle, wo zum

natürlichen Sog noch der künstliche des Glyzerins in gleicher Richtung kommt, die Erscheinung um so häufiger und intensiver auftreten muß.

Kehren wir aber zu den brauchbareren Ergebnissen mit Blattstielen zurück, also zu jenen, die eine einwandfreie Stromumkehr im Außenphloëm, nicht dagegen im Innenphloëm zeigten. Diese Befunde ergaben in zweierlei Hinsicht wichtige Anhaltspunkte.

1. Es war mit der künstlichen Erzielung der apikalen Strömungsrichtung im Außenphloëm bei gleichzeitiger Beibehaltung der basalen im Innenphloëm ebenso wie durch die natürliche Divergenz der Strömungsrichtung im faszikulären und extrafaszikulären Phloëm (vgl. S. 173) neuerdings der Hinweis erbracht, daß die Möglichkeit einer gleichzeitigen Strömung nach verschiedenen Richtungen in verschiedenen Siebröhrenkomplexen gegeben ist. Damit kann die entgegengerichtete Ableitung von Kohlenhydraten und die Zuleitung von Eiweißen oder Kaliumfluoreszein (vgl. S. 174) auf Grund obiger Befunde mindestens ebenso berechtigt als Strömung in verschiedenen Siebröhrenkomplexen angesehen werden, als wie eine gleichzeitig entgegengesetzte Strömung in denselben Siebröhren, zumal dafür kein konkreter Beweis bisher erbracht wurde, daß tatsächlich ein und dieselbe Siebröhre zwei verschieden gerichtete Ströme gleichzeitig leiten könne. Letzteres wäre ohne Schwierigkeiten nur bei einer einfachen Diffusion denkbar, aber schon nicht mehr so leicht bei einer beschleunigten Diffusion. Denn nunmehr müßte für die durch Oberflächenkräfte bewirkte und gesteuerte Leitung für jeden Stoff, entsprechend der verschiedenen Strömungsrichtung, je ein gesondertes Grenzflächensystem angenommen werden.

2. Es könnte gegen die gesamten Umkehrversuche der Einwand erhoben werden, daß es sich um ausgesprochen pathologische Erscheinungen handelt und damit den Versuchen nur geringe Bedeutung beizumessen wäre. Nun tritt aber bei den Blattstielversuchen der seltsame Fall auf, daß gerade das dem Glyzerin unmittelbar naheliegende innere Phloëm seine normale, basalgerichtete Strömung meist behält, während das entferntere, durch zahlreiche Parenchymlagen vom Glyzerin geschützte, äußere Phloëm fast immer die Strömungsumkehr ergibt. Würde diese künstliche Strömungsumkehr auf einer pathologischen Veränderung der Siebröhren beruhen, dann wäre nicht einzusehen, warum ausgerechnet das entferntere Außenphloëm davon betroffen sein sollte, während das direkt beeinträchtigte Innenphloëm keine Schädigungen davonträgt. Gerade diese Tatsache scheint mir ein bedeutsamer Hinweis, daß es sich bei der Stromumkehr nicht um einen durch pathologische Veränderungen der Siebröhren aus-

gelösten Vorgang handelt. Damit aber scheint auch außer Zweifel gestellt, daß der Assimilatstrom und der mit ihm identische Kaliumfluoreszeinstrom ein Massenstrom ist.

V. Nachsatz.

Es bleibt abschließend noch die Arbeit von Döpp (1939) über die Funktion der Siebröhren näher zu betrachten, weil in ihr schwerwiegende Bedenken gegen eine Massenströmung in den Siebröhren erhoben werden. Döpp geht vom Münchschen Zirkulationsschema für junge Früchte (1930, S. 77) aus, nach welchem die Gefäße nicht zuführenden, sondern ableitenden Charakter hätten und die gesamte Wasserzufuhr durch den Massenstrom in den Siebröhren bewerkstelligt werden sollte. Um diese Theorie auf ihre Richtigkeit zu prüfen, hat Döpp Versuche vornehmlich mit Kürbissen angestellt. Dabei ergab sich, daß nach Operationen, bei welchen alle Gefäße des zuführenden Sproßinternodiums herausgeschnitten, die äußeren Phloëmteile dagegen unversehrt belassen wurden, das Wachstum der jungen Früchte zum Stillstand kommt. Nach dem Münchschen Schema wäre dagegen der Fortgang des Wachstums zu erwarten. Döpp schließt daher, daß der Assimilatstrom keine Massenströmung sein könne, da durch diese auch hinreichend Wasser in die Frucht geschafft würde. Er macht dabei allerdings eine wesentliche Voraussetzung, nämlich die, daß nach der Operation die Siebröhren noch funktionstüchtig sind. Er führt dafür einen Versuch ins Feld, bei dem kleine Mengen der Wasserleitbahnen nicht weggeschnitten wurden, wo sofort das Wachstum weiterging, während es umgekehrt bei abgeschnittenen Früchten, die mit dem Stiel ins Wasser gestellt wurden, nicht der Fall war. Theoretisch wäre dies tatsächlich ein konkreter Beweis, praktisch aber nicht, da sich bei einer Nachprüfung des letzten Versuches (Einstellen junger, verdunkelter Kürbisse mit dem Fruchtstiel in destilliertes Wasser) herausstellte, daß die Früchte sehr wohl imstande sind, weiter an Gewicht zuzunehmen (2—4 %/24 Stunden). Der sofortige und vollständige Stillstand erschien mir bei reiner Wasserzufuhr insofern zweifelhaft, als ja diejenigen meristematischen Zellen, die sich gerade im Streckungswachstum befinden, ihre Volumensvergrößerung größtenteils nur durch Wasseraufnahme bewerkstelligen. Danach ist der Schluß Döpps, daß die Siebröhren nach der Operation funktionstüchtig waren, nicht völlig gewiß, wenngleich 1. nicht anzunehmen ist, daß alle Siebröhren beschädigt worden sind und 2. die Operationsversuche Schumachers, die an den

Gefäßbündeln der Pelargonie mit sichergestelltem Erfolg durchgeführt wurden, für die Brauchbarkeit der Methode sprechen. Es wäre jeder Zweifel leicht zu beheben gewesen, wenn Döpp die Leitfähigkeit nach der Operation durch einige Kaliumfluoreszeinversuche bewiesen hätte.

Wesentlich maßgebender als diese Unsicherheit in der Methode sind aber zwei sachliche Dinge für die Beurteilung des Leitungsprinzipes. Erstens fragt es sich, ob das Münchsche Schema der Fruchtversorgung bei einer Massenströmung unbedingt zu Recht besteht, und zweitens, wie weit bei den Döppschen Operationsversuchen nicht nur eine Drosselung der evtl. Wasserzufuhr durch die Gefäße, sondern auch ungewollt Ausfallserscheinungen erzielt wurden, die mit zu der Wachstumshemmung der Früchte beitrugen.

Es ist im Hinblick auf das Münchsche Schema sehr bemerkenswert, daß die osmotische Konzentration der Früchte bedeutend niedriger ist als die des zuführenden Assimilatstromes. So konnte ich durch refraktometrische Messungen[1]) der Konzentration des Siebröhrensaftes von *Cucurbita* feststellen, daß im Siebröhrensaft des Stengels eine Konzentration von 10,5 und mehr Prozent Zucker herrschte, während sie im Fruchtstiel 9% und knapp an der Frucht im ersten Augenblick 8,5 bis 8%, nach dreiminütigem Ausfluß hingegen nur mehr 5% betrug. Diese Konzentrationsabnahme bei andauerndem Ausfluß konnte durch eine an sich geringere Konzentration der tiefer in der Frucht liegenden Siebröhren oder aber durch die von Frey-Wyssling beschriebene Verdünnungsreaktion verursacht werden. Ungeachtet dessen, welcher von beiden Fällen verwirklicht ist, können wir aus den Ergebnissen schließen, daß die osmotische Konzentration des Fruchtgewebes noch geringer ist; gegenüber dem zugeleiteten Siebröhrensaft ist sie etwa auf $^1/_3$ gesenkt. Würde bei der Polymerisation des Zuckers zu den Polysacchariden das Wasser durch die Gefäße wieder abgeführt, so würde auch die Zuckerkonzentration derjenigen der zuleitenden Siebröhren ähnlicher sein. Das ist aber, wie sich zeigte, nun keineswegs der Fall. Ja, die große Verdünnung des Zellsaftes des Fruchtgewebes, das sehr geringe Quantum der Trockensubstanz der Kürbisfrucht und ein gewisser Verbrauch an Wasser durch die Transpiration machen es sogar sehr wahrscheinlich, daß das Lösungswasser der Assimilate nicht ausreicht, sondern durch solches, das durch die Gefäße zugeführt wird, ergänzt werden muß. Es wird die nächste dringende Aufgabe sein, diese Frage durch quantitative Untersuchungen zu klären. Denn sobald

1) Für die Überlassung des Handzuckerrefraktometers von Zeiß bin ich Herrn Professor B. Huber, Tharandt, zu herzlichem Dank verpflichtet.

sich das Verhältnis der Trockensubstanz zum Wasser in der Frucht gegenüber dem in den zuleitenden Siebröhren zugunsten des Wassers verschiebt, muß auch im Falle einer Massenströmung Wasser durch den Holzteil zugeleitet werden.

Daß Wasser tatsächlich durch das Holz zugeleitet wird, geht bereits klar aus den Döppschen Versuchen hervor. Es wird nicht allzuschwer sein, in neuen Untersuchungen mit fluoreszenzoptischen Methoden auch eine tiefergehende Kenntnis der Wasserströmungen in den Früchten zu erhalten.

Im Hinblick auf die Döppschen und die obigen Ergebnisse ist aber hervorzuheben, daß im Falle einer Massenströmung ein etwaiger Mangel an Wasser nach der Operation doch nicht die Ursache des gänzlichen Wachstumstillstandes sein kann, da ja doch ein Großteil des Wassers durch die Siebröhren in die Frucht gelangen müßte. Mit der Annahme einer gewissen Wasserversorgung durch die Gefäße tritt uns aber eine zweite, viel wesentlichere Tatsache entgegen. Schneiden wir nämlich die gesamten Wasserleitungsbahnen heraus, dann nehmen wir der Frucht nicht nur die Zufuhrmöglichkeit von Wasser, sondern auch die der mineralischen Substanzen, die zum Aufbau der Materie nötig sind. Im Siebröhrensaft finden sich zwar außer Zucker und Eiweiß noch eine Reihe anorganischer Verbindungen, darunter das wichtige K und PO_4. Aber andere Mineralien, wie z. B. das Ca treten sehr stark zurück (Kraus, Zacharias). Auch nach neuesten Forschungen kommt eine hinreichende Zuleitung von Salzen durch das Phloëm nicht in Frage (Stout und Hoagland 1939, Gustafson 1939). Aus den Versuchen von Gustafson geht z. B. hervor, daß normalerweise nur 1/100 derjenigen Salzmenge im Phloëm geleitet wird, die im Holz mit dem Transpirationsstrom hochsteigt; und selbst bei zwangsweiser Wasserzufuhr durch das Phloëm allein erreicht die geleitete Salzmenge höchstens $^1/_{20}$ derjenigen im Holz. Wir müssen daher erkennen, daß in dem Augenblick, in dem wir die Holzbahnen entfernen, die Frucht mit einer ausgesprochenen Mangellösung ernährt wird, die nach allen unseren Erfahrungen das Wachstum unweigerlich hemmen muß. Wie sich gerade Kalkmangel rasch störend bemerkbar macht, ist jedem von einfachen Wasserkulturversuchen ohne Calciumzusatz bekannt. Ich zweifle nicht, daß wir bei den Döppschen Untersuchungen außer einem gewissen direkten Wassermangel besonders diese Verhältnisse mitberücksichtigen müssen.

Alles in allem scheint mir, daß die Ergebnisse von Döpp, so eindeutig sie für den ersten Blick sein mögen, doch mit einiger Vor-

sicht bei der Beurteilung des Strömungsprinzipes verwertet werden können. Da meine oben geschilderten Versuchsergebnisse völlig nach der anderen Richtung weisen, ist mit um so größerem Interesse der angekündigten Weiterführung der Versuche durch Döpp entgegenzusehen.

VI. Zusammenfassung und Schluß.

A. Die Untersuchungen über die Protoplasmatik

ergaben:

1. Die funktionstüchtigen Siebröhren weisen einen grundverschiedenen Plasmazustand auf gegenüber den jungen, undifferenzierten. Mit der „Reifung" büßen die Siebröhren sehr von ihrem Lipoidgehalt ein und werden stark hydratisiert, wodurch sie einen äußerst labilen Zustand erlangen.

Der Verwässerung des Plasmas folgt der Kernverlust oder geht damit Hand in Hand. Es wird die Möglichkeit erörtert, daß die reifen Siebröhren keinen oder einen sehr veränderten Tonoplasten gegenüber normalen (Parenchym-) Zellen haben. Die Untersuchungen darüber sind noch im Gange. Sie sind von grundlegender Bedeutung im Hinblick auf eine Massenströmung in den Siebröhren.

2. Die funktionstüchtigen Siebröhren sind trotz der weitgehenden Veränderungen ihres Plasmas unter gewissen Umständen plasmolysierbar. Die Wegigkeit des Siebporenplasmas ist, wie Versuche mit *Aesculus*-Siebröhren zeigten (Punkt 4), für Massenströmungen in den Vakuolen trotzdem vorhanden. Nur Verstopfungen der Siebporen durch verlagerten Inhalt der anschließenden Siebröhrenglieder scheinen es zu bedingen, daß die Vakuolen vereinzelter Siebröhren nicht ausfließen. Da das wandständige Plasma für Osmotica schwerer durchgängig ist (Durchtritt durch das Plasmalemma!), kommt es im Falle einer Porenverstopfung zur Plasmaabhebung.

3. Wurde die Safthaut nicht im turgeszenten Zustand vom Stamme geschnitten, sondern vorerst mit einem Osmoticum erschlafft, dann ergaben sich bei weiterer Behandlung mit dem Plasmolyticum in den Schnitten etwas häufiger Siebröhrenplasmolysen. Ebenso gelang es, bei *Pinus* Siebröhrenplasmolysen zahlreicher zu erzielen, wenn die Vorbehandlung mit Al- und Ca-Salzen durchgeführt wurde, wodurch außer der Erschlaffung auch eine „Härtung" des Plasmas erfolgt sein dürfte.

4. Die große Wegsamkeit des Siebröhrenplasmas wird an *Aesculus*-Siebröhren demonstriert, bei welchen durch einen polar angesetzten

osmotischen Außensog eine Strömung durch die Siebporen eintritt, ohne Plasmaabhebungen oder erkennbare Degenerationen desselben herbeizuführen. Kenntlich wird die Strömung in den Vakuolen an einzelnen mitgeführten Stärkekörnchen, die, wie die Untersuchungen an fixiertem Material zeigten, von der Innenseite des Plasmawandbelages in die Vakuole hineinreichen und durch den strömenden Zellsaft aus ihrer Lage z. T. losgelöst werden.

5. Die Notwendigkeit einer großen Längswegigkeit der Siebröhren sowohl für die Massenströmung wie für die diffusionsartige Leitung wird gezeigt. Unter Zugrundelegung der eigenartigen plasmatischen Entwicklung der Siebröhren sowie der experimentell ausgelösten Massenströmung in den *Aesculus*-Siebröhren und in Milchröhren (Frey-Wyssling 1932) wird die Möglichkeit einer Massenströmung in den Siebröhren gegenüber einer diffusionsartigen, beschleunigten Stoffleitung besprochen. Es ergab sich, daß die allermeisten anatomischen Befunde nicht nur ebenso die Möglichkeit für eine Massenströmung wie für eine beschleunigte Diffusionsströmung der Assimilate gewährleisten, sondern im Verein mit dem phylogenetischen Entwicklungstendenzen (Huber 1939a) die erstere sehr viel wahrscheinlicher machen.

6. Die Neutralrotfärbung fiel bei den Siebröhren wie bisher immer (Crafts 1932—1939, Huber u. Rouschal 1938) nur an jungen differenzierten Siebröhren positiv aus. Eine eingehendere Analyse der Neutralrotfärbung an *Pinus*- und *Picea*-Siebröhren zeigte, daß die Fähigkeit der Neutralrotspeicherung in der Vakuole sehr früh erlischt, ehe noch irgendwelche mikroskopische Veränderungen des Protoplasten gegenüber den ganz jungen, kambiumnahen Siebröhren zu erkennen sind. Das Kambium und die unmittelbar anschließenden Siebröhren mit ihrem granulösen, dicklichen Plasma färben sich intensiv, die nach außen folgenden, noch nicht völlig ausdifferenzierten bleiben bereits blasser, und ein bis zwei Lagen weiter nach auswärts finden sich völlig farblose Siebröhrenglieder. Die Farbe des gespeicherten Neutralrotes in den Kambiumzellen und den jungen Siebröhren ist mennigrot, während die Parenchymbänder das Neutralrot mit purpurner Farbe speichern.

Ergänzende Untersuchungen mit dem Fluoreszenzmikroskop zeigten, daß die im Hellfeld nicht gefärbt erscheinenden älteren Siebröhren auch die Farbbase nicht speichern, die durch ihre grüngelbe resp. orangegelbe Fluoreszenz zu erkennen wäre (Strugger 1940). Die an sich gefärbten, jüngeren Siebröhren und das Kambium speichern sie dagegen in wässriger Phase (orangegelbe Fluoreszenz). Aus diesem Befund und der mennigroten Färbung durch das Farbsalzmolekül kann der

Schluß gezogen werden, daß schon im Kambium sowie in den jungen Siebröhren die Reaktion des Zellsaftes alkalisch ist. Daß reife, durch alkalischen Zellsaft ausgezeichnete Siebröhren unfähig sind, das Neutralrot zu speichern, beweist deren Gerbstoff- und Lipoidarmut (vgl. Drawert 1940).

B. Die fluoreszenzoptischen Untersuchungen über die Leitfunktion der Siebröhren mittels des Kaliumfluoreszeins (Schumacher 1933, 1937) führten zu folgenden Ergebnissen:

1. Die genaue mikroskopische Analyse zeigte, daß bei der Fernleitung im Phloëm vielfach das Protoplasma der Siebröhren (als auch der Geleit- und Parenchymzellen) der stärkst fluoreszierende Teil der Zellen ist (*Pelargonium*). An weitlumigen Siebröhren von *Cucurbita* und einigen Bäumen, deren Protoplasten sehr zart waren, konnte jedoch häufig eine diffuse Fluoreszenz in der Vakuole beobachtet werden, wobei kein Intensitätsunterschied in der Fluoreszenz gegenüber dem wandständigen Plasma bemerkbar war. Dadurch verliert die schwer auf die Assimilatleitung anwendbare Theorie Schumachers, wonach das Kaliumfluoreszein nur im Plasma wandern könne, da es angeblich nie in der Vakuole zu finden sei, die wesentlichste Grundlage. Es wird gezeigt, daß nach dieser Feststellung eine zweite, ebenso berechtigte und für die Assimilatleitung wahrscheinlichere Theorie der Leitung aufgestellt werden kann. Sie besagt, daß das Kaliumfluoreszein primär in geringen Konzentrationen in der Vakuole geleitet und erst sekundär daraus durch das intensiv speichernde Plasma herausgerissen und festgehalten wird. Mit dieser, durch frühere Befunde anderer Autoren (Both 1937, Strugger 1938) experimentell gestützten Anschauung lassen sich alle von Schumacher beschriebenen Erscheinungen der Kaliumfluoreszeinleitung in den Siebröhren auf einfachste Weise erklären (vgl. S. 169). Es wurde

2. versucht, auch den Beweis für diese Theorie zu erbringen. Die Untersuchungen an den Siebröhren junger Triebe, Frucht- und Blattstiele, also an Leitungsbahnen, die vorwiegend einen bestimmten Verbrauchsort (Vegetationspunkt, Frucht) zu versorgen bzw. die Ableitung vom Erzeugungsort (Blattspreite) zu bewerkstelligen haben, weisen immer eine gleichgerichtete, polare Strömung des Farbstoffes auf. Dies läßt mit Sicherheit den Schluß zu, daß der Assimilat- und der Kaliumfluoreszeinstrom identisch sind und durch den gleichen Mechanismus befördert werden. Bei Annahme einer Diffusionsleitung ergeben sich große Schwierigkeiten für die Erklärung der (bereits von

Schumacher 1933 entdeckten) polaren Strömung. Mit der reinen Diffusion läßt sich die polare Wanderung überhaupt nicht erklären; mit einem für die Beschleunigung angenommenen Oberflächenmechanismus (van den Honert) wohl der Assimilatstrom; kaum dagegen die polare Kaliumfluoreszeinausbreitung. Leicht hingegen ist die polare Leitung bei einer Massenströmung in den Vakuolen verständlich, die einseitig zu den Verbrauchsorten gerichtet ist und den Farbstoff naturgemäß nur in dieselbe Richtung bringen kann. Der endgültige Beweis für diese Ansicht wurde dadurch erbracht, daß

3. an jungen Trieben und Fruchtstielen basal der Farbstelle künstlich ein osmotischer Sog angelegt wurde (Glyzerininjektion in die Zentralhöhle des *Cucurbita*sprosses). Mit diesem gelang es, die Stromrichtung umzukehren, d. h. von der apikalen in die basale Richtung zu lenken. Da eine derartige Umkehr nur bei einer Massenströmung, niemals aber bei einer Diffusion möglich ist, scheint mir damit der sichere Beweis gegeben, daß die rapide Assimilat- und Kaliumfluoreszeinleitung in den Siebröhren durch eine Massenströmung zustande kommt.

4. Unabhängig von dem unter B 2 geschilderten, natürlicherweise apikal gerichteten Farb- und Assimilatstrom in den faszikulären Siebröhren der im Streckungswachstum befindlichen Triebe geht ein basal bzw. zentrifugal und -petal gerichteter „Nebenstrom" in den extrafaszikulären Siebröhren (= ecto- und entozyklische Siebröhren nach A. Fischer). Er versorgt offensichtlich die im raschen Wachstum befindlichen, phloëmentfernteren Gewebe der Streckungszone. Die basale Richtung macht es nicht ausgeschlossen, daß auch vielleicht Hormone von der Spitze her mittransportiert werden.

5. Die „Umkehrversuche" bei Blattstielen mittels des künstlich angebrachten osmotischen Soges führten häufig dazu, daß nur das äußere Phloëm, nicht aber das Innenphloëm gegen die ursprüngliche und naturgegebene basale Richtung leitete.

6. Aus Punkt 4 und 5 geht hervor, daß in verschiedenen Siebröhrenkomplexen unabhängige und entgegengesetzte Ströme gehen können. Die jungen, im Streckungswachstum befindlichen Sprosse boten dafür ein naturgegebenes, die Blattstiele ein experimentell ausgelöstes Beispiel. Dies zeigt, daß gleichzeitige, entgegengesetzte Stoffwanderungen, wie sie bereits öfter gefunden wurden (vgl. S. 174, 196), nicht im Widerspruch mit einer Massenströmung stehen, sondern wahrscheinlich in gleicher Weise erklärt werden können.

7. Abschließend werden die Ergebnisse DÖPPS (1939), die gegen eine Massenströmung sprechen, einer Kritik unterzogen. Auf Grund eigener refraktometrischer Messungen der Zuckerkonzentration des Siebröhrensaftes von *Cucurbita* ergibt sich die Wahrscheinlichkeit, daß die Kürbisfrüchte außer dem Lösungswasser des Assimilatstromes noch weiteres durch den Holzteil zugeleitet erhalten. Das MÜNCHsche Zirkulationsschema für Früchte (1930, S. 77), von dem DÖPP ausgeht, dürfte demnach für *Cucurbita* nicht zutreffen. Quantitative Untersuchungen stehen aber noch aus.

Die operative Entfernung der zuleitenden Holzteile müßte schon aus obigem Grunde zu einer gewissen Wachstumshemmung der Früchte führen. Daneben wird aber eine hinreichende Versorgung der Früchte mit Mineralsubstanzen unterbunden, so daß die Früchte nach der Operation mit einer ausgesprochenen Mangellösung ernährt werden und in erster Linie deshalb im Wachstum gehemmt werden müssen. Danach sind die DÖPPschen Versuche nicht hinreichend beweiskräftig, um die Theorie einer Massenströmung in den Siebröhren widerlegen zu können.

In den Ausführungen der Kapitel I—IV werden nähere wesentliche Befunde über die Funktion der Siebröhren, die nicht unmittelbar im Zusammenhang mit den eigenen Untersuchungen stehen, unberücksichtigt gelassen. Ich beabsichtige auch nicht, diese in breiter Diskussion nunmehr zu besprechen. Vielmehr will ich versuchen, das Für und Wider zur Massenströmungstheorie einerseits, zur Diffusionstheorie andererseits in Form einer tabellarischen Übersicht zusammenzufassen, wobei die wesentlichsten Ergebnisse berücksichtigt werden sollen. Für jeden einzelnen Punkt gebe ich, soweit es möglich ist und sich nötig erweist, eine kurze aus der Literatur genommene oder eigene Kritik.

Vorweggenommen sei, daß wir auch bei diesem allgemeinen Überblick überzeugende Ergebnisse, die für eine Massenströmung in den Siebröhren sprechen, in der Mehrheit finden. Es fehlte aber bisher das experimentum crucis, das den zwingenden Beweis für die Massenströmung geliefert hätte.

A. Tatsachen, die für eine Massenströmung in den Siebröhren sprechen. (Stellungnahme im Kleindruck.)

I. Physiologische Befunde.

Hartig, Th., 1858: Saftfluß aus den Siebröhren. Polare Richtung des Assimilatstromes in den Bäumen.

Crafts, 1938: Die Allgemeingültigkeit des Saftflusses durch die Schlierenmethode erwiesen.

Crafts, 1933, 1936: Siebröhrenfluß von *Cucurbita* hält mehrere Minuten an (nach Rouschal, unveröff., gilt dasselbe für *Tilia*). Bei Erneuerung der Schnittflächen an Triebspitzen von Kürbis war der kontinuierliche Ausfluß 24 Stunden lang festzustellen.

Crafts, Döpp, 1939: Der Dauerausfluß aus den peripheren, engeren Siebröhren mit feineren Plasmodesmen entspricht dem Poisseuilleschen Gesetz über den Ausfluß aus langen Kapillaren (Frey-Wyssling).

Münch, 1930: Regeneration des Siebröhrensaftes nach einiger Zeit wenige Zentimeter oberhalb des ersten Einschnittes.

Rouschal, d. Ber.: Gerichtete, künstliche Massenströmung durch polaren osmotischen Sog an intakten Siebröhren von *Aesculus*. Beweis der Wegigkeit des unversehrten Siebporenplasmas. (Experimentelle Bestätigung der mathematischen Formulierung über die Wegigkeit durch Frey-Wyssling, 1932, 1933.)

Stellungnahme: 1. Saftfluß nur experimentell ausgelöst; bisher kein Beweis erbracht, daß auch im intakten Siebröhrensystem vorhanden. 2. Pathologische Erscheinung (Zerstörung des Protoplasmas in den Siebporen durch einseitigen Turgordruck). Dies stimmt wohl zum Teil (weite Poren! *Robinia*). Der kontinuierliche Ausfluß und die Regeneration desselben sprechen gegen eine Verallgemeinerung.

Birch-Hirschfeld, 1921, Dixon & Ball, 1922, Münch, 1930, Schumacher, 1931, Mothes, 1931, Huber, Schmidt und Jahnel, 1937: Aus der Menge der geleiteten Zucker und N-Verbindungen ergaben Berechnungen und refraktometrische Bestimmungen der Stromstärken bzw. Strömungsgeschwindigkeiten Werte von einigen Zentimetern bis Metern/Stunde. Diese Geschwindigkeiten sind bei einer einfachen Diffusion unmöglich.

Statt räumlicher Molekularbewegung wäre eine durch Oberflächenkräfte beschleunigte, zweidimensionale Diffusion (Spreitung) an Grenzflächen möglich (Mangham, 1917, Van den Honert, 1932).

Münch, 1930, Dixon & Gibbon (zit. nach Huber, 1933), Herrick, 1933, Pfeiffer, 1937, Huber, Schmidt und Jahnel, 1937, Huber, 1939a: Allgemeines osmotisches Gefälle vom Ort der Assimilaterzeugung zum Ort des Verbrauches.

Gleichsinnige, partielle Konzentrationsgefälle der einzelnen Komponenten sind auch für die Diffusion notwendig. Nach Pringsheim (zit. nach Münch 1930) existieren angeblich Verhältnisse mit umgekehrtem (allgemeinen) Konzentrationsgefälle. In solchen Fällen käme evtl. das Münchsche Zirkulationsschema (vgl. B 7 der Zusammenfassung) in Frage.

Münch, 1930, Frey-Wyssling, 1932: Außer osmotischem Druck auch Saugungen als treibende Kraft. (Kombinierte Druck- Saugströme; „verborgene" Saftströme). Wesentlich zum Verständnis der Leitung in welken Systemen.

Nicht erklärbar ist damit eine Strömung von welken zu turgeszenten Organen (alte → junge Blätter!), wenn nicht im Phloem andere Turgorverhältnisse angenommen werden wie im Parenchym (beachte: Drüsenfunktion der Scheidenzellen, Mason und Maskell 1936, Collander & Holmström [zit. nach Huber, 1938], Leonard 1939).

Münch, 1930: Große Dehnbarkeit der Membranen am Verbrauchsort (meristematisches Gewebe), geringe Elastizität derselben im Leitungsgewebe (Bedeutung der Schutzscheiden). Unter diesen Umständen würde selbst ohne osmotisches Gefälle eine Strömung zum Verbrauchsort möglich sein.

Huber, Schmidt und Jahnel, 1937, Huber, 1939a; Refraktometrische Bestimmung des Tagesganges der Konzentration des Siebröhrensaftes, zeitliche Verschiebung der Konzentrationswellen in basaler Richtung (entsprechend einer Strömungsgeschwindigkeit bis zu 2m/Std.).

Die gleichzeitige Konzentrationsverschiebung in allen Stammhöhen entspricht voll dem Prinzip einer Massenströmung (vgl. Münch 1930, S. 15), während bei einer Diffusion infolge der Strömungsverlangsamung mit der Entfernung niemals diese klare lineare Stetigkeit der Zuckerleitung möglich wäre (der Tagesgang würde stammabwärts immer mehr verwischt werden).

Leonhardt, 1940: Strenger Tagesrhythmus des Tannenhonigens (Honigabsonderung von Blattläusen) bei konstanter Temperatur und Luftfeuchtigkeit bei Licht- und Dunkelwechsel in Übereinstimmung mit den refraktometrischen Tagesgängen.

Tagesgang des Honigens auch durch rhythmische Tätigkeit der Blattläuse denkbar; wurde von Leonhardt eindeutig widerlegt.

Benett, 1937, 1938, Crafts, 1939: Die Virusfernleitung in den Siebröhren geht symbat mit dem Assimilatstrom. Eine rasche Wanderung der großen Virus-Moleküle ist nur durch eine Massenströmung erklärbar.

Es könnten auch kleinermolekulare Erregersubstanzen wandern, die erst sekundär die Bildung der Virus-Makromoleküle veranlassen (fermentative Wirkung); es käme aber auch dann eine recht beträchtliche Molekülgröße der wandernden Substanz in Frage (Eiweißmolekül + prosthetische Gruppe).

Fischer, 1937, Schumacher, 1937, Deleano u. Dick, 1939 u. a.: Keine Hemmung der raschen Assimilatströmung durch Narkotika, trotzdem diese sehr oberflächenaktiv sind und daher die Wanderstoffe von den Grenzflächen verdrängen würden (Van den Honert).

Schumacher, 1933, 1937, Both, 1937, Rouschal, d. Ber.: Polarität der Kaliumfluoreszeinströmung (Blattstiel abwärts, Fruchtstiel und Triebspitzen aufwärts) im Sinne der herrschenden Assimilatströmung. Dazu: Münch, Schumacher, Curtis, 1935, Both, Engard, 1939, Leonard, 1939, Rouschal: Eine Polarität der Siebröhren an sich existiert nicht. Die polare Strömung ist somit nicht konstitutionell bedingt (gelegentliche Umkehr der Strömungsrichtung!)

Bei reiner Diffusion ist demnach die Polarität unverständlich, da das Kaliumfluoreszein an der Anbringungsstelle die höchste Konzentration hat und entsprechend dem Gefälle in basaler und apikaler Richtung wandern müßte. Unter Annahme einer an Grenzflächen beschleunigten Diffusion wäre die einseitige Assimilatleitung möglich, die des Kaliumfluoreszeins dagegen kaum (es müßte sich auch nun entsprechend dem Konzentrationsgefälle bis zu einem gewissen Grade in entgegengesetzter Richtung ausbreiten).

Rouschal, d. Ber.: Umkehr der Strömungsrichtung durch künstlichen osmotischen Sog basal von der Farbstelle bei Versuchen mit Triebspitzen und Fruchtstielen, apikal bei Blattstielen.

Pathologische Erscheinung? Dagegen spricht, daß das innere Phloëm im Blattstiel des Kürbis, das dem im Zentralhohlraum befindlichen Osmotikum am nächsten war, somit am ehesten geschädigt werden müßte, meist nicht beeinflußt wurde (also weiterhin in basaler Richtung leitete), während das äußere, vom Osmotikum entferntere Phloëm die Stromumkehr zeigte.

II. Anatomische und phylogenetische Merkmale.

Huber u. Rouschal, 1938, Crafts, Huber, 1939a: Große Ähnlichkeit der Siebröhrenentwicklung mit der der Gefäße (Kurzlebigkeit!). Entwicklung des Siebröhrenplasmas von einem dicken, grobdispersen zu einem optisch leeren, hauchdünnen Wandbelag. Funktionstüchtiger Zustand erst in degenerativer Phase (Kernverlust, Hydratisierung des Plasmas, Verlust der im jungen Zustand heftigen Strömung usw.), Starke Verwässerung des Siebröhrensystems bei der Reifung (Lipoidarmut, keine Neutralrot- und Rhodamin B-Speicherung); Bedeutung der Quellung für die Steigerung der Porenpermeabilität! (Alkalische Reaktion des Siebröhrensaftes zur Erhaltung bzw. Förderung der Quellung?).

Nicht unbedingt geht die Plasmolysierbarkeit verloren. Die Permeabilität des seitenständigen Plasmawandbelages wird nicht in gleichem Maße erhöht wie die der

Siebporenplasmodesmen. Verstopfung der Siebporen durch verlagerten Inhalt kann den Eintritt des Osmotikums verhindern, die Plasmolyse ist dann möglich. Völlig passiv sind die Siebröhren — wenigstens am Anfange ihres funktionstüchtigen Zustandes — nicht, denn sie kondensieren noch Stärke (Crafts nimmt eine völlige Passivität der Siebröhren im funktionstüchtigen Stadium an).

Fischer, 1884, Abbé u. Crafts, 1939, Esau, 1939: Grenzenloser Übergang von Plasma und Vakuole der reifen Siebröhren. Fehlen des schwer durchgängigen Tonoplasten? (vgl. S. 152).

Rouschal: Bei *Cucurbita* gelingt die Sichtbarmachung des Tonoplasten reifer Siebröhren mittels Quellungsverfahren, die im Parenchym zur Kappenplasmolyse führen, nicht. Gegen einen konkreten Tonoplasten spricht bis zu einem gewissen Grade in manchen Fällen der Mangel einer Grenze gegen die Vakuole bei der Kaliumfluoreszeinfärbung.

Uhlela, 1939: Beim Schrittwachstum von *Basidiobolus ranarum* gibt es eine ähnliche Erscheinung, wobei in den leeren Basalzellen nur der plasmolysierbare Ektoplast zurückbleibt.

Allgemein gilt die Feststellung des Tonoplastenschwundes sicher nicht (vgl. Schmidt, 1917). Fischer gibt ihn nur für die Siebröhren junger Kürbisfrüchte an (die allerdings besonders funktionstüchtig sein müssen!); Esau findet bei verschiedenen Objekten nur „nicht sehr scharfe Grenzen". Die Kaliumfluoreszeinleitenden Siebröhren von Pelargonien haben nach Schumachers und meinen Befunden eine scharfe Trennung zwischen Plasma und Vakuole. Genaue Untersuchungen stehen noch aus.

Huber, 1939 a: Die phylogenetische Entwicklung der Siebröhren geht von engporigen zu weitporigen (*Coniferen*, *Rosaceen* → *Robinia*, *Fraxinus* usw.). Diese Entwicklung entspricht dem Poiseuilleschen Gesetz für Massenströmungen.

Die Siebröhrenleitflächen werden gleichstark beansprucht wie die Holzleitflächen, d. h. die relativen Leistungen verhalten sich wie die Querschnitte zueinander. Nur Zufall?

III. Analogien.

Alle bisher erforschten Fernleitungen im Pflanzen- und Tierkörper (Transpirationsstrom, Blut- und Lymphkreislauf) sind Massenströmungen.

Ternetz, 1900, Schröter, 1905, Jahn, 1934: Rapide Strömungen in Pilzen und Plasmodien sind Massenströmungen.

Es strömt in diesen Fällen auch das innere Plasma, wir haben also keine reine Vakuolenmassenströmung, wie sie in den Siebröhren vorzustellen wäre.

B. Tatsachen, die für eine diffusionsartige Strömung in den Siebröhren sprechen. (Stellungnahme im Kleindruck).

I. Physiologische (und theoretische) Befunde.

Sachs, 1863: Nur die unabhängige Diffusion der einzelnen Stoffe gewährt eine sinngemäße Verteilung derselben (dieselbe Ansicht wird noch von Fischer, 1936, wiederholt).

Stellungnahme: Die zweckmäßige Stoffversorgung ist durch das Wahlvermögen der verbrauchenden Zellen gegeben. Wie im tierischen Organismus die Zuleitung eines Stoffgemisches zu den einzelnen Zellen erfolgt, dem nach Bedarf Bestimmtes entnommen wird, so trifft dies auch für den pflanzlichen Organismus für Stoffe zu, die der Transpirationsstrom mit sich führt (Rouschal & Strugger, 1940). Es ist danach selbstverständlich, daß auch bei der Versorgung mit Assimilaten dasselbe Prinzip hinreicht.

Schumacher, 1933, 1937: a) Rapidleitung des Kaliumfluoreszeins im Plasma, da es nur dort und nicht im Zellsaft zu finden ist. b) Zwei aufeinanderfolgende kleine Gaben von Kaliumfluoreszein bewirken — entsprechend der Steigerung des Konzentrationsgefälles — eine diffusionsbedingte „Schiebung"; nacheinanderfolgende Gaben von Kaliumfluoreszein und Aesculin wandern dagegen unabhängig. Letzteres wäre einer der stärksten Beweise für eine diffusionsartige Strömung, wenn Punkt a) zuträfe.

Schumacher, 1933, Both, 1937, Rouschal: Mindest ebenso intensiv wie das Siebröhrenplasma speichert meist auch das der Geleitzellen und des benachbarten Parenchyms. Bei Baum- und *Cucurbita*siebröhren findet man häufig eine diffuse Anfärbung des gesamten Inhaltes, also auch der Vakuole. Die Plasmaleitung wird dadurch sehr fraglich. Wir können, wie Both, Crafts (1938) und Rouschal äußern, mit derselben Wahrscheinlichkeit die Wanderung geringer Kaliumfluoreszein-Konzentrationen mit einem Massenstrom im Zellsaft und sekundäre Speicherung im Plasma annehmen. Die Ergebnisse von b) bereiten auch dann keine Erklärungsschwierigkeiten (vgl. S. 169).

Schumacher; Große Geschwindigkeiten der Kaliumfluoreszeinströmung; beschleunigender Mechanismus? Mason u. Phillis, 1935: Aktivierung der Molekularbewegung.

Huber 1939: Die Geschwindigkeit der Molekülbewegung ist proportional der Quadratwurzel der absoluten Temperatur; eine Erhöhung der Geschwindigkeit auf das 10000— und mehrfache der Diffusion, wie sie gefordert werden müßte, wäre erst bei einer Temperatursteigerung auf 1 Mill. Grad und darüber erreichbar.

Mangham, 1917, van den Honert, 1932: Große Beschleunigung der Stoffausbreitung durch zweidimensionale, durch Oberflächenkräfte aktivierte Molekülspreitung an Grenzflächen.

Stroganow, 1935: Kohlehydrate setzen die Grenzflächenspannung der zwei nicht mischbaren Phasen Öl-Wasser herab, ihre beschleunigte Wanderung an Grenzflächen erscheint demnach möglich.

1. Die Geschwindigkeit aller diffusionsartigen Strömungen (auch der beschleunigten!) ist nicht linear. Die Anfangswerte müßten noch viel höher sein, als sie gefunden wurden (Huber, 1938). Alle Strömungsberechnungen fordern bei Zugrundelegung einer 5—20%igen Zuckerkonzentration des Siebröhrensaftes den gesamten Vakuolenquerschnitt als Leitfläche. Da der Plasmaquerschnitt 10—100mal kleiner ist als der der Vakuole, nimmt Schumacher eine Zuckerförderung ohne Wasser (Diffusion!) an. Bei einer beschleunigten Grenzflächenströmung ist aber nur ein Bruchteil des Plasmaquerschnittes als Leitfläche gegeben. Kann damit auch noch die tatsächliche Assimilatförderung erklärt werden? 3. Im Assimilatstrom werden Zucker, Eiweiße (bzw. Aminosäuren) und verschiedene Hormone geleitet. Es müßten für diese verschieden oberflächenaktiven Stoffe wahrscheinlich mehrere Grenzflächensysteme angenommen werden, um einen geregelten Transport aller zu ermöglichen. Bei nur einer Grenzfläche bestünde die Gefahr, daß die schwächer aktiven Stoffe durch die stärkeren von derselben verdrängt würden und damit ihre beschleunigte Wanderung ausgeschlossen wäre.

De Vries, 1885, Curtis, 1935: Beschleunigung der Diffusion durch Plasmaströmung.

Die wesentlichste Voraussetzung, nämlich die Plasmaströmung, fehlt in reifen Siebröhren (Schmidt 1917, eigene Beobachtungen).

Schumacher, 1931, Mothes, 1931, Curtis u. Scofield, 1933: Strömung gegen ein Turgeszenzgefälle: Entleerung alter Korollen und Blätter, Auswanderung aus welken Blättern und mäßig turgeszenten Reservestoffbehältern (vgl. S. 192).

Loomis, 1935, Mason, Maskell und Phillis 1936, Fischer, 1936, Palmquist, 1938, u. a.: Gleichzeitige, entgegengesetzte Leitung verschiedener Stoffe (N-Verbindungen bzw. Kaliumfluoreszein und Kohlehydrate).

Rouschal, d. Ber.: Experimenteller Beweis verschiedener Strömungsrichtungen in verschiedenen Siebröhrenkomplexen; in natura: verschiedene Richtung in faszikulären und extrafaszikulären Siebröhren junger *Cucurbita*triebe, künstlich (unter osmotischer Einwirkung): entgegengesetzte Strömungsrichtung im Innen- und Außenphloëm von *Cucurbita*-Blattstielen.

Döpp, 1939: Kürbisfrüchte, deren Wasserversorgung durch das Holz unterbunden ist (operative Entfernung des Holzes im zuleitenden Sproß), wachsen nicht mehr. Bei einem Massenstrom in den Siebröhren müßte außer den Assimilaten auch (Lösungs-) Wasser zugeführt werden, eine Volumenzunahme müßte stattfinden.

Für *Cucurbita* ist nicht erwiesen, daß die Siebröhren nach der Operation funktionstüchtig blieben (wohl für *Pelargonium* — Schumacher 1930). Wie S. 184 gezeigt wird, ist beim Kürbis außer dem Lösungswasser der Assimilate eine weitere Wasserzufuhr durch die Holzbahnen sehr wahrscheinlich notwendig. Die Unterbindung derselben bedingt nicht nur die Vorenthaltung dieses Wassers, es werden auch die mineralischen Substanzen, die damit zur Frucht kommen sollten, abgehalten. Die Frucht wird demnach mit einer unzureichenden Mangellösung ernährt.

Curtis u. Krusemann (zit. nach Huber 1933), Schumacher, 1933, 1937: Die Geschwindigkeit der Assimilat- und Kaliumfluoreszeinleitung ist stark temperaturabhängig.

Dies muß auch im Falle einer Massenströmung zutreffen, denn 1. wird mit der Temperatur der Leitwiderstand geändert, 2. die Assimilatproduktion gehemmt (und damit das Konzentrationsgefälle vermindert), 3. der Verbrauch herabgesetzt, da auch das Wachstum durch die Temperatur stark beeinflußt wird.

Curtis u. Mason (zit. nach Huber 1936): Örtlicher Sauerstoffentzug hemmt die Assimilatleitung, spricht gegen eine eindeutige Druckströmung.

II. Anatomische Merkmale.

Schmidt, Crafts, Mühldorf 1937, Schumacher: Die Plasmodesmen der Siebporen bestehen aus kompaktem Plasma. Eine Strömung in den Vakuolen ist demnach weniger wahrscheinlich als bei offenen Vakuolenkommunikationen.

1. Die Kompaktheit des Plasmodesmenplasmas im fixierten Zustand muß nicht dem natürlichen Zustand entsprechen (Münch). 2. Eine Massenströmung ist auch bei kompakten Plasmodesmen möglich (Frey-Wyssling). 3. Das stark verquollene Binnenplasma muß — auch bei einer diffusionsartigen Strömung! — hochpermeabel sein (logische Forderung auf Grund der bestehenden Assimilatleitung). Zur weiteren Diskussion steht nur die wichtige Frage der Durchlässigkeit des Tonoplasten bzw. dessen Existenz in reifen Siebröhren.

Literaturverzeichnis.

Abbé, L. B. and Crafts, A. S., Phloem of white pine and other coniferous species. Bot. Gaz. **100,** 695 (1939). — Arisz, W. H., Onderzoekingen over opname en transport in parenchymweefsel von bladeren von Drosera en Vallisneria. Vakblad v. Biol. **21,** Nr. 1 (1939). — Ders. and P. J. van Dijk, The value of plasmolytic methods for the demonstration of the active asparagine intake by Vallisneria leaves. Proc. Nederl. Acad. Wet. Amsterdam **42,** 820 (1939). — Ders. and Oudman, J., On the influence of aggregation on the transport of asparagine and caffeine in the tentacles of Drosera capensis. Proc. Acad. Wet. Amsterdam **40** (1937). — Dieselben, On the transport of introduced nitrogenous substances in the leaves of Vallisneria spiralis. Proc. Acad. Wet. Amsterdam, **40,** 440 (1937). — Becker, W. A., Über die Entstehung der Vernarbungsmembranen. Protoplasma **27,** 341 (1937). — Bennett, C. W., Correlation between movement of the curly top virus and transport of food in tobacco and sugar beets. Journ. Agric. Res. **54,** 479 (1937). — Ders., Movement of the virus of sugar beet mosaic. Phytopathol. **28,** 668 (1938). — Ders., The relation of food translocation to movement of the virus of tobacco mosaic. Journ. Agric. Res. (1939). — Birch-Hirschfeld, L., Untersuchungen über die Ausbreitungsgeschwindigkeit gelöster Stoffe in der Pflanze. Jb. wiss. Bot. **59,** 171 (1920). — Both, M. P., Stoffwanderung in einfachen Systemen. Rec. trav. bot. néerland. **34** (1937). — Brinkman und Szent-Györgyi, Über die Ausbreitung stark kapillaraktiver Substanzen auf der Wasseroberfläche mit Berücksichtigung des Problems der Nervenreizleitung. Biochem. Z. **139,** 274 (1923). — Crafts, A. S., Movement of organic materials in plants. Plant Physiol. **6,** 1 (1931). — Ders., Phloem anatomy, exudation and transport of organic nutrients in cucurbits. Ebenda **7,** 183 (1932). — Ders., Sieve-tubes structure and translocation in the potato. Ebenda **8,** 81 (1933). — Ders., Further studies on exudation in cucur-

bits. Ebenda **11,** 63 (1936). — Ders., Translocation in plants. Ebenda **13,** 791 (1938). — Ders., The relation between structure and function of the phloem. Amer. Jour. Bot. **26,** 172 (1939). — Ders., The protoplasmatic properties of sieve-tubes. Protopl. **33,** 389, (1939). — Ders., Movement of viruses, auxins and chemical indicators in plants. Bot. Rev. **5,** 471 (1939). — Curtis, O. F., The translocation of solutes in plants. London 1935. — Ders. and Scofield, H. T., A comparison of osmotic concentrations of supplying and receiving tissues and its bearing on the Münch hypothesis of translocation mechanism. Americ. Jour. Bot. **20,** 502 (1933). — Czapek, F., Über die Leitungswege der organischen Baustoffe im Pflanzenkörper. Sitzber. Akad. Wiss. Wien, math.-nat. Kl. **106,** I, 117 (1897). — Ders., Zum Nachweis von Lipoiden in Pflanzenzellen. Ber. Dtsch. Bot. Ges. **47** (1919). — Danckwortt, P. W., Lumineszenzanalyse, 4. Aufl., Leipzig 1940. — Deleano, N. T., Über die Ableitung der Assimilate durch die intakten, die chloroformierten und die plasmolysierten Blattstiele der Laubblätter. Jb. wiss. Bot. **49,** 129 (1911). — Ders. und Dick, J., Beiträge zum Studium der Auswanderung der Assimilate aus den Laubblättern mit chloroformierten Blattstielen. Beitr. Biol. Pfl. **26,** 81 (1939). — Dixon, H. H., The transpiration stream. London 1924. — Ders. and Ball, N. G., Transport of organic substances in plants. Nature **109,** 236 (1922). — Döpp, W., Beiträge zur Frage der Stoffwanderung in den Siebröhren. Jb. wiss. Bot. **87,** 679 (1939). — Drawert, H., Das Verhalten der einzelnen Zellbestandteile fixierter pflanzlicher Gewebe gegen saure und basische Farbstoffe bei verschiedener Wasserstoffionenkonzentration. Flora **132,** 91 (1937). — Ders. Zur Frage der Stoffaufnahme durch die lebende pflanzliche Zelle II. Die Aufnahme basischer Farbstoffe und das Permeabilitätsproblem. Flora **134,** 159 (1940). — Ders. und Strugger, S., Zur Frage der Methylenblauspeicherung in Pflanzenzellen I. Ber. Dtsch. Bot. Ges. **56,** 43 (1938). — Eisenbrand, J., Fluoreszenzlöschung in Lösungen durch organische Stoffe. Z. physik. Chem., Abt. B, **22,** 145. — Engard, Ch. J., Translocation of carbohydrates in the Cuthbert raspberry. Bot. Gaz. **100,** 439 (1939). — Esau, K., Development and structure of the phloem tissue. Bot. Rev. **5,** 373 (1939). — Fischer, A., Untersuchungen über das Siebröhrensystem der Cucurbitaceen. Berlin 1884. — Fischer, H., Untersuchung über die Stickstoffwanderung in der höheren Pflanze. Z. Bot. **30,** 449 (1936). — Frey-Wyssling, A., Der Milchsaftguß von Hevea brasiliensis als Blutungserscheinung. Jb. wiss. Bot. **77,** 560 (1932). — Ders., Dynamik des Saftergusses aus turgeszenten Kapillaren. Ber. Schweiz. Bot. Ges. **42,** 254 (1933). — Ders., Der Aufbau der pflanzlichen Zellwände. Protopl. **25,** 261 (1936). — Ders., Röntgenometrische Vermessung der submikroskopischen Räume in Gerüstsubstanzen. Ebenda, **27,** 372 (1937). — Gustafson, F. G., Upward transport of minerals through the phloem of stems. Science **2,** 306 (1939). — De Haan, J., Protoplasmaquellung und Wasserpermeabilität. Rec. trav. bot. néerl. **30,** 234 (1933). — Hartig, Th., Über die Bewegung des Saftes in den Holzpflanzen. Bot. Ztg. **16,** 329 u. 337; **19,** 17 (1858, 1861). — Ders., Beiträge z. physiologischen Forstbotanik. Allgem. Forst- u. Jagdzeitung **36,** 257 (1860). — Hill, A. W., The histology of sieve-tubes of pinus. Ann. of Bot. **15,** 575 (1901). — Höfler, K., Über Kappenplasmolyse. Ber. Dtsch. Bot. Ges. **46** (73) (1928). — Ders., Das Permeabilitätsproblem und seine anatomischen Grundlagen (Mikrochirurgische Versuche zum Hautschichtenproblem). Ber. Dtsch. Bot. Ges. **49,** (79) (1931). — Ders., Kappenplasmolyse und Jonenantagonismus. Protopl. **33,** 145 (1939). — Hofmeister, F., Zur Lehre von der Wirkung der Salze. Die Beteiligung gelöster Stoffe an Quellungsvorgängen. Arch. f. experim. Path. u. Pharm. **28,** 116 (1891). — van den Honert, T. H., On the mechanism of the transport of organic materials in plants. Proc. Acad. Wetensch. Amsterdam **35,** 1104 (1932). — Huber, B., Wasserumsatz und Stoffbewegung. Fortschr. d. Bot., Bd. **2, 5, 6, 7, 8,** (1933, 1936, 1937, 1938, 1939). — Ders., Hundert Jahre Siebröhrenforschung. Protopl. **29,** 132 (1937 a). — Ders., Das Siebröhrensystem unserer Bäume und seine jahres-

zeitlichen Veränderungen. Jb. wiss. Bot. **88,** 176 (1939 a). — Ders., Schmidt, E., und Jahnel, H., Studien über den Assimilatstrom I. Tharandt. Forstl. Jb. **88,** 1017 (1937). — Ders. und Rouschal, E., Anatomische und zellphysiologische Beobachtungen am Siebröhrensystem der Bäume. Ber. Dtsch. Bot. Ges. **56,** 380 (1938). — Jahn, A., Über Wachstum, Plasmaströmung und vegetative Fusionen bei Humaria leucoloma Hed. Z. f. Bot. **27,** 193 (1934). — Kortüm, G., Das optische Verhalten gelöster Jonen und seine Bedeutung für die Struktur elektrolytischer Lösungen. Fluoreszenzauslöschung und Solvatation. Z. phys. Ch. B. **40,** 431 (1938). — Kraus, G., Über den Siebröhreninhalt von Cucurbita. Sitzber. Naturf. Ges. Halle **9—14** (1884). — Leonard, O. A., Translocation of carbohydrates in the sugar beet. Plant Physiol. **14,** 55 (1939). — Leonhardt, H., Klima, Witterung und Honigtau. Anz. f. Schädlingsbek. **16,** 85 (1940). — Lepeschkin, W. W., Einfluß des Lichtes auf Exosmose und Speicherung von Salzen in Kartoffelknollengewebe. Protopl. **34,** 55 (1940). — Loomis, W. E., Translocation and growth balance in woody plants. Ann. of Bot. **49** (1935). — Mangham, S. N., On the mechanism of translocation in plant tissues. An hypothesis with special reference to sugar conduction in sieve-tubes. Ann. of. Bot. **31,** 293 (1917). — Mason, T. G., Maskell, E. J., and Phillis, E., Further studies on transport in the cotton plant III. Ann. of Bot. **50,** 23 (1936). — Ders. and Phillis, E., Further studies on transport in the cotton plant IV. On the simultaneous movement of solutes in opposite directions through the phloem. Ann. Bot. **50,** 161 (1936). — Dieselben, V. Oxygen supply and the activation of diffusion. Ebenda **50,** 455 (1936) und Proc. 6. intern. bot. Congr. **2,** 296 (1935). — Moose, C. A., zit. nach Huber 1939 (Fortschr. Bot.) (1938). — Mothes, K., Zur Kenntnis des N-Stoffwechsels höherer Pflanzen. Planta **12,** 686 (1931). — Mrazek, A., Über geformte eiweißartige Inhaltskörper bei den Leguminosen. Öst. bot. Z., **60,** 198, 218, 312 (1910). — Mühldorf, A., Das plasmatische Wesen der pflanzlichen Zellbrücken. Beih. Bot. Centr. A. **56,** 171 (1937). — Münch, E., Die Stoffbewegungen in der Pflanze. Jena 1930. — Ders., Ergänzende Versuche über Stoffbewegungen (Vorl. Mitt.), Ber. Dtsch. Bot. Ges. **50,** 407 (1932). — Ders., Ref. über Arbeit von Schumacher. Zt. f. Bot. **30,** 63 (1936). — Ders., Versuche über Wege und Richtungen der Stoffbewegungen im Baum. Forstw. Zentr.bl. **59,** 305 (1937). — Noack, K., Über den Zustand des Chlorophylls in der lebenden Pflanze. Biochem. Ztschr. **183,** 135 (1927). — Oudman, J., Über Aufnahme und Transport stickstoffhaltiger Verbindungen durch die Blätter von Drosera capensis. Rec. d. trav. bot. néerland. **33** (1936). — Palmquist, E. M., The simultaneous movement of carbohydrates and fluorescein in opposite directions in the phloem. Amer. Jour. Bot. **25,** 97 (1938). — Pfeiffer, M., Die Verteilung der osmotischen Werte im Baum in Hinblick auf die Münchsche Druckstromtheorie. Flora **132,** 1 (1937). — Rhodes, A., The Movement of fluorescein in the plant. Proc. Leeds Phil. Soc. **3,** 389 (1937). — Rouschal, E., Wasserumsatz u. Stoffbewegung. Fortschr. d. Botanik **9** (1939). — Ders., Fluoreszenzoptische Messungen der Geschwindigkeit des Transpirationsstromes an krautigen Pflanzen mit Berücksichtigung der Blattspurleitflächen. Flora **134,** 229 (1940). — Ders. und Strugger, S., Der fluoreszenzoptisch-histochemische Nachweis der kutikulären Rekretion und des Salzweges im Mesophyll. Ber. Dtsch. Bot. Ges. **58,** 50 (1940). — Ruhland, W., Untersuchungen über den Kohlenhydratstoffwechsel von Beta vulgaris. Jb. wiss. Bot. **50,** 200 (1912). — Sachs, J., Über saure, alkalische und neutrale Reaktionen der Säfte lebender Pflanzenzellen. Bot. Ztg. **20,** 257 (1862). — Ders., Über die Leitung der plastischen Stoffe durch verschiedene Gewebeformen. Flora **46,** 33, 49, 65 (1863). — Scarth, G. W., The action of cations on the concentration and viscosity of protoplasm in *Spirogyra*. Quart. Journ. Exp. Physiol. **14,** 115 (1924). — Schmidt, W., Bau und Funktion der Siebröhre der Angiospermen. Jena 1917. — Schneider-Orelli, O., Die Miniergänge von Lyonetia clercella und die Stoffwanderung in Apfelblättern. Zbl. f. Bact. **24,** II, 158 (1909). — Schröter, A.,

Über Protoplasmaströmung bei Mucorineen. Flora **95,** 1 (1905). — Schumacher, W., Untersuchungen über die Lokalisation der Stoffwanderung in den Leitbündeln höherer Pflanzen. Jb. wiss. Bot. **73** (1930). — Ders., Über Eiweißumsetzungen in Blütenblättern. Ebenda **75,** 581 (1931). — Ders., Untersuchung über die Wanderung des Fluoreszeïns in den Siebröhren. Ebenda **77,** 685 (1933). — Ders., Untersuchungen über die Wanderung des Fluoresceïns in den Haaren von Cucurbita. Ebenda **82,** 507 (1936). — Ders., Weitere Untersuchungen über die Wanderung von Farbstoffen in den Siebröhren. Ebenda **85,** 423 (1937). — Ders., Über die Plasmolysierbarkeit der Siebröhren. Ebenda **88,** 545 (1939). — Stout, P. R., and Hoagland, D. A., Upward and lateral movement of salt in certain plants as indicated by radioactiv isotopes of potassium, sodium and phosphorus absorbed by roots. Amer. Jour. of Bot. **26,** 320 (1939). — Strasburger, E., Über den Bau und die Verrichtungen der Leitungsbahnen in den Pflanzen. Jena 1891. — Stroganow, N. S., Grenzflächenspannung von Zuckerlösungen an verschiedenen Trennungsflächen. Protopl. **24,** 431 (1935). — Strugger, S., Die Analyse der Vitalfärbung pflanzlicher Zellen mit Erythrosin. Ber. Dtsch. Bot. Ges. **49,** 453 (1931). — Ders., Die Vitalfärbung des Protoplasmas mit Rhodamin B und 6 G. Protopl. **30,** 85 (1938). — Ders., Fluoreszenzmikroskopische Untersuchungen über die Speicherung und Wanderung des Fluoreszein-Kaliums in pflanzlichen Geweben. Flora **132,** 253 (1938). — Ders., Neues über die Vitalfärbung pflanzlicher Zellen mit Neutralrot. Protopl. **34,** 601 (1940). — Szücs, J., Über charakteristische Wirkungen des Aluminium-Jons auf das Protoplasma. Jb. wiss. Bot. **52,** 269 (1913). — Ternetz, C., Protoplasmaströmung und Fruchtkörperbildung bei *Ascophanus carneus* Pers. Jb. wiss. Bot. **35,** 273 (1900). — Ulehla, V., Über einen natürlich isolierten und überlebenden Ektoplasten in den „leeren" Zellen von *Basidiobolus ranarum* und seine Semipermeabilität. Arch. experim. Zellf. **22,** 501 (1939). — De Vries, H., Über die Bedeutung der Zirkulation und der Rotation des Protoplasmas für den Stofftransport in der Pflanze. Bot. Ztg. **43,** 1, 13 (1885). — Van der Weij, H. G., Der Mechanismus des Wuchsstofftransportes. Rec. trav. bot. néerland. **29,** 379 (1932). — Weber, F., Krampfplasmolyse bei *Spirogyra*. Pflügers Arch. ges. Physiol. **206,** 629 (1924). — Went, F. W., Eine botanische Polaritätstheorie. Jb. wiss. Bot. **76,** 528 (1932). — Ders., Transport of inorganic ions in polar plant tissues. Plant Physiol. **14,** 365 (1939). — Wislicenus, H., Zur Kenntnis des stofflichen Aufbaues der Holzsubstanz aus den holzbildenden Säften der Baumpflanze. Zellulosechemie 149—168 (1933). — Zacharias, E., Über den Inhalt der Siebröhren von *Cucurbita pepo*. Bot. Ztg. **42,** 65 (1884).

Erklärung zu Tafel III.

Fig. 1: *Pinus silvestris*, 23. III. 1940. Äußere Partien der Safthaut tangential (Vergr. 190 mal). Konkavplasmolysen in 1,5 Mol Traubenzucker.

Fig. 2: *Pinus silvestris*, 23. III. 1940. Safthaut tangential (Vergr. 570 mal). Gutentwickelte Siebröhren mit Konkavplasmolysen bei stärkerer Vergrößerung.

Fig. 3: *Picea pungens*, 30. VII. 1940. Safthaut radial (Vergr. 380 mal). Plasmolysebeginn der vorjährigen (überwinterten) Siebröhren in 1,5 Mol Glyzerin. Dunkler linker Rand = obliteriertes Gewebe, von dessen Mitte senkrecht dazu ein darunterliegender Markstrahl (dunkel angedeutet) verläuft. Darüber die plasmolysierten Siebröhren. Dunkler Streifen rechts = äußeres Parenchymband.

Fig. 4: *Pinus silvestris*, 10. VII. 1940. Safthaut radial (Vergr. 570 mal). Vollendete Konvexplasmolysen der diesjährigen äußersten Siebröhren in 1,5 Mol Glyzerin mit seltener Klarheit hervortretend. Der plasmolysierte, weitlumige Zellenzug rechts ist das äußere Parenchymband. Die an den radialen Wänden der Siebröhren liegenden Siebtüpfel sind nur andeutungsweise sichtbar (Scharfeinstellung auf optischen Querschnitt).

Über die Entstehung homozygotischer Formen aus komplexheterozygotischen Oenotheren.

Von O. Renner.

(Aus dem Botanischen Institut der Universität Jena.)

Mit 5 Abbildungen im Text.

Homozygotische Formen gehen aus komplexheterozygotischen Oenotheren auf viererlei Weise hervor:

A. Der eine Komplex einer spontanen Sippe ist von vornherein frei von Letalfaktoren und deshalb homozygotisch lebensfähig; die Homozygoten entstehen also bei Selbstbestäubung regelmäßig, theoretisch zu 1 auf zwei Heterozygoten: I. Primäre Homozygoten.

B. Ein homozygotisch lebensfähiger Komplex entsteht erst durch Abstoßung letaler Genomelemente.

B. a. Das einzige Letalchromosom eines Komplexes kann bei der Keimzellenbildung eines Bastardes durch ein von Letalfaktoreu freies Chromosom des Partnerkomplexes ersetzt werden; in der zweiten Generation der Kreuzung tritt dann die Homozygote als häufige Kombination auf: II. Hybridogene[1]) Homozygoten.

B. b. Das einzige Letalchromosom eines Komplexes kann bei der Meiose in der spontanen Sippe den einzigen Letalfaktor durch crossing-over abstoßen und ihn durch einen nicht letalen Genomteil aus dem Partnerkomplex ersetzen; die zunächst entstehende Komplexhomozygote pflegt dann den Letalfaktor in einfacher Dosis noch zu besitzen, in ihrer Nachkommenschaft treten Vollhomozygoten auf: III. Crossover-Homozygoten.

B. c. Durch eine neue reziproke Translokation entsteht ein aus Elementen der ursprünglichen Komplexe gemischter, von Letalfaktoren freier Komplex, der mit beiden ursprünglichen Komplexen lebensfähige Zygoten als „Halbmutanten“ erzeugt; aus den Halbmutanten geht bei Selbstbestäubung die homozygotische „Vollmutante“ in größerer Zahl hervor: IV. Translokationsmutanten.

Die drei ersten Gruppen werden im folgenden behandelt. Für die Darstellung der vierten Gruppe werden noch einige Ergebnisse des kommenden Sommers abgewartet.

1) Das Wort ist selber hybrid, aber wohl nicht mißzuverstehen.

I. Primäre Homozygoten.

1. Oe. ochracea aus Oe. grandiflora.

Oe. grandiflora von de Vries, mit der Zusammensetzung *acuens* ♀♂ · *truncans* ♀♂, spaltet bei Selbstbestäubung immer zu etwa einem Drittel die weiterhin konstante Form *ochracea* = *acuens* · *acuens* ab, die in der Diakinese sieben Paare bildet (Gerhard 1929). De Vries hat den Vorgang als Massenmutation bezeichnet (1918 a, S. 382, 415, und Op. Coll. S. 205, 232; 1918 b, S. 31), aber nach seiner eigenen, völlig richtigen Darlegung des Sachverhalts: ein Viertel lebensfähige homozygotische *ochracea*, zwei Viertel lebende heterozygotische *grandiflora*, ein Viertel lebensunfähige Homozygoten (nach unserer Benennung *truncans* · *truncans*) als taube Samen, ist die Bezeichnung Mutation nicht gerechtfertigt. Gerhard spricht deshalb mit voller Absicht von *Oenothera ochracea* und nicht von mut. *ochracea* (S. 286); dem schließen Cleland u. Oehlkers (1930, S. 26) sich an. Wenn Darlington (1931, S. 443; 1932, S. 411; 1937, S. 351 f.) eine Mutation durch crossing over in einem interstitiellen Segment — oder in unserer Ausdrucksweise durch eine neue Translokation — annimmt, so verläßt er sich dabei auf die Bezeichnung von de Vries, die den Tatsachen weniger gerecht wird als seine ausführliche Schilderung des Erbgangs.

2. Oe. lutescens aus Oe. suaveolens.

Die *Oe. suaveolens* von Fontainebleau, die de Vries in Kultur genommen hat und die seitdem von verschiedenen Autoren kultiviert wird, hat die Konstitution *albicans* ♀ · *flavens* ♀♂. Sie entwickelt die *flavens*-Homozygoten im allgemeinen nur zu kleinen kugligen Embryonen in ziemlich großen tauben Samen (Hiorth). Eine Sippe, die ich am Bahnhof Friedrichshagen-Hirschgarten (östlich von Berlin) fand (1938, S. 99), ist der de Vriesschen Rasse in allen Stücken sehr ähnlich, bildet auch wie diese in der Diakinese einen 12-gliedrigen Ring und ein freies Paar, aber sie spaltet bei Selbstbestäubung in beträchtlicher Häufigkeit *flavens*-Homozygoten als teils gelbe, teils gut grüne, aber hinter der heterozygotischen Mutter an Wüchsigkeit doch weit zurückbleibende, wenig verzweigte *lutescens* ab (Nr. 1393—1397). Die Meiose dieser *lutescens* ist nicht untersucht, doch ähnelt die Form der aus *(Oe. biennis* × *suaveolens) rubiflava* gewonnenen (vgl. unten S. 211) so vollkommen im Wuchs und in den oft defekten Laubblättern und Petalen, daß an der Identität nicht zu zweifeln ist. Am natürlichen Standort habe ich *lutescens* nicht gesehen, sie wird also die Blühreife dort wohl nicht erreichen. Die Abspaltung der *lutescens* ist augenscheinlich ein

völliges Analogon zu der Bildung der *ochracea* aus *Oe. grandiflora*. Für eine Entstehung durch crossing-over (vgl. unten S. 229) ist die *lutescens* hier zu häufig; in der Familie Nr. 1395 kommen 14 *lutescens* auf 22 *suaveolens*. — Die Art bastardiert sich am Standort regelmäßig mit der in viel größerer Menge vorkommenden *Oe. biennis*, wie die Absaat von drei Individuen zeigt (Nr. 1393—1395). Aus Selbstbestäubung der *Oe. suaveolens* im Garten gewonnene *lutescens* war durchweg gelb und schwach, vielleicht nur zufällig (Nr. 1397), ebenso die aus selbstbestäubter flavirubata gewonnene (Nr. 1398).

Über die Herkunft dieser abweichenden *suaveolens*-Sippe wie der *Oe. grandiflora* von DE VRIES läßt sich keine begründete Mutmaßung aussprechen. Kreuzung, die den Letalfaktor aus einem Komplex entfernt hat, könnte natürlich im Spiel sein, aber ebensogut könnte crossing-over innerhalb der Ausgangssippe die Ursache sein (vgl. unten). LEHMANN (1922, S. 197, 145) bezeichnet *Oe. grandiflora* als Halbmutante, aber die typischen Halbmutanten vom Typus der *Oe. Lamarckiana* mut. *rubrinervis* haben mehrere Chromosomenpaare, während *Oe. suaveolens* von Friedrichshagen ein Paar und *Oe. grandiflora* gar keines besitzt (nach CLELAND u. OEHLKERS 1930, S. 26; GERHARD, 1929, S. 321, glaubt ein freies Paar zu sehen).

Belege[1]).

Nr. **Oe. suaveolens von Friedrichshagen.**

1393. suaveolens 1, Absaat aus Wildsamen: 38 r - suaveolens, Kronbl. 30 : 37, 32 : 39, 35 : 42 mm; 12 r - lutescens recht kräftig, mit defekten Kronblättern; 1 R - flavirubata, Bastard aus biennis - Pollen; 3 R - biennis = albicans • rubens, Bastard, auffallend schwach. 38/107.

1394. suaveolens 2, Absaat aus Wildsamen: 36 grüne und 33 gelbe Sämlinge, die gelben großenteils in den Keimschalen gestorben. Blühend: 31 r - suaveolens, Kronblätter 30 : 36 mm (nicht mehr maximal); 5 r - lutescens, schmalblättrig, Kronblätter im besten Fall 24 : 20 mm, doch meist defekt; 10 R - flavirubata, Bastard aus biennis - Pollen, teilweise sehr gelb und schwach, andere gut grün, breitblättrig, Kronblätter 23 : 36 mm. 38/108.

1395. suaveolens 3, Absaat aus Wildsamen: 22 r - suaveolens, sehr üppig; 14 r - lutescens; 3 R - flavirubata und 6 R - biennis, Bastarde. 38/109.

1396. suaveolens sulfurea, Absaat aus Wildsamen: keimt schlecht; blühend 7 suaveolens sulfurea, davon 1 schmalblättr. Abweicher. 38/110.

1397. suaveolens (aus 38/107) selbst: 37 sehr große r - suaveolens, Kronblätter 30 : 35, 34 : 40, 36 : 38 mm; 1 weißscheckig; 4 lutescens, schwach, gelbgrün; 15 eingegangen, wohl lutescens. 39/94.

1398. R - flavirubata (aus 38/108) selbst: 38 R - flavirubata kräftig, breitblättrig, meist schön grün, zeitweise zum Teil etwas gelblichgrün, meist Sp, einige sp (vgl. unten S. 211); 28 gelbe gestorben, wohl lutescens. 39/124.

1) Die Nummern der Belege schließen an die Arbeit von 1940 (b) an.

3. Homozygotische Zwerge aus Oe. pratincola.

In der heterogamen *Oe. pratincola*, deren Komplexe α und β genannt worden sind, ist α gewöhnlich nur in den Embryosäcken und β im Pollen aktiv (Cobb Blanchard 1926). In der Linie C kommen aber gelegentlich aktive β-Embryosäcke vor, und die dann entstehenden β-Homozygoten sind schwache Zwerge („runts"), die nur ein paar Zoll hoch werden und selten blühen (Cobb Blanchard 1929, S. 121). Häufig sind diese „grauen Zwerge", denen die Autorin keinen Namen gegeben hat, bei *Oe. pratincola* mut. *recidiva*, sogar häufiger als die Heterozygoten (Cobb Bl. 1926, S. 138ff., und Tab. III), und Kulkarni (1929, S. 609f.) hat hier Blüten untersuchen können und 7 freie Paare in der Meiose gefunden. In der — jetzt verlorenen — „mass-mutating" Linie E der *Oe. pratincola*, die im β-Komplex einen rezessiven Faktor b für schmale zurückgerollte Blätter besaß, entstanden die β-Homozygoten ziemlich häufig als zwergige, schmalblättrige „Mutante" *setacea* (Cobb Bl. 1929, S. 121). Emerson schließt sich dieser Deutung der *setacea* an (1936, S. 337f.). Er erhielt *setacea* auch in F_2-Generationen der Zwillingsbastarde von *Oe. suaveolens* × *pratincola* E, aus *flavens* · β und besonders aus *albicans* · β (S. 325, 338). Ob sie wirklich 7 Chr.-Paare hat, konnte nicht ermittelt werden, weil sie zu selten blühte.

Auch die zwergigen β-Homozygoten aus *Oe. pratincola* sind somit in ihrer Entstehungsweise der homozygotischen *ochracea* aus *Oe. grandiflora* analog.

α-Homozygoten von *Oe. pratincola* sind nie lebend gefunden worden. Kulkarni berichtet über „$\alpha\alpha$-Hybriden" mit einem 10er-Ring und zwei Paaren und über „$\beta\beta$-Hybriden" mit einem 4er-Ring und fünf Paaren. Aber hier handelt es sich um Produkte der Kreuzungen zwischen den Mutanten *recidiva* und *simulans*, deren α- und β-Komplexe nicht identisch sind. Auch in den Arbeiten von Cobb Blanchard ist die Verwendung des Symbols α für verschiedene Eizellen- und der Bezeichnung β für verschiedene Pollenkomplexe störend.

4. Oe. franciscana Rasse B von Davis.

Was für eine Bewandtnis es mit der homozygotischen *Oe. franciscana* hat, ist ziemlich klar geworden. Zehn Jahre nachdem die Art durch Bartlett vom natürlichen Standort bei Carmel Beach in Kalifornien in Kultur genommen war (1910, zitiert bei Cleland 1922, S. 391), fand Cleland an dem von Davis seit 1913 kultivierten Material (Linie B, Davis 1916) in der Diakinese 5 freie Paare und einen 4er-Ring (Cleland 1922, eingesammelt 1919 und 1920). 1923 fand Hoeppener

an demselben von Davis erhaltenen Stamm die gleiche Konfiguration (Hoeppener u. Renner 1929, S. 61), desgleichen Kulkarni (1928), der allerdings angibt, daß der viergliedrige Ring in der späteren Diakinese in zwei Paare zerbreche. Weder Cleland noch Hoeppener u. R. habe diese vorzeitige Auflösung des Rings gesehen, und so läßt sich der Verdacht nicht abweisen, daß Kulkarni zwei verschiedene Formen vor sich gehabt und die späteren Zustände, vor allem die Metaphase, an Individuen beobachtet hat, die von vornherein 7 freie Paare besaßen.

Inzwischen hatte Cleland weiteres, ebenfalls auf Davis zurückgehendes Material aus den Kulturen von Shull untersucht und 7 freie Paare gefunden (1928, eingesammelt 1925). An späteren Generationen derselben Linie und an einem Stamm von de Vries, der die Samen ebenso wie Davis von Bartlett erhalten hatte, wurde derselbe Befund gemacht (Cleland 1932, S. 574, 577; gesammelt 1929 und 1930). Auch Emerson u. Sturtevant fanden bei Abkömmlingen der Rasse B von Davis 7 Paare (Emerson 1928, S. 122; Sturtevant 1931, S. 378). Davis selber berichtet später (1937, S. 106) ausführlich über Deszendenten derselben Linie, bei denen er wiederholt (1928, 1933, 1935) 7 Paare festgestellt hat[1]).

Die von Cleland untersuchten *franciscana*-Stämme von Shull und von de Vries stimmen darin überein, daß ihre Bastarde mit *Oe. Hookeri* in der Diakinese 7 Paare bilden (Cleland 1932, S. 580f.). Die Linie von Emerson und Sturtevant dagegen bildet mit ^{h}*Hookeri* einen 4er-Ring und 5 Paare, hat also anstelle zweier Chromosomen, von denen das eine als $7 \cdot 8$ identifiziert, das andre als $9 \cdot 10$ definiert ist, zwei translozierte, $7 \cdot 10$ und $9 \cdot 8$ (Emerson u. Sturtevant 1931, S. 401f.). Auch die reziproken Bastarde zwischen der homozygotischen *Oe. franciscana* und der homozygotischen *Oe. grandiflora* von Shull bilden nach Cleland (1928, S. 562) 5 Paare und einen 4er-Ring, während Emerson (1929, S. 122) bei *grandiflora* × *franciscana* 7 Paare fand. Das ist die erste Spur davon, daß Emerson einen anderen Stamm kultivierte als Shull und Cleland.

Nebeneinander hat B. Japha (1939) in Freiburg die beiden Stämme von de Vries und von Emerson u. Sturtevant aufgezogen. Sie findet

1) Davis (1937, S. 110) weist darauf hin, daß Emerson (1931a, S. 328, 332, 339) bei der Kreuzung normaler *Oe. franciscana* mit „*franciscana sulfurea*“ (vgl. unten) teils 7 Paare, teils 5 Paare und einen 4er-Ring fand, und nimmt an, daß es sich dabei um eine neue Translokation handle. Wahrscheinlicher ist aber wohl, daß Emerson damals noch die ursprüngliche Rasse mit dem 4er-Ring verwendete.

bei der Linie von de Vries „bedeutend helleres Blattgrün", und bei dem Bastard mit *franciscana* von Em. u. St. das dunkler grüne Laub des Vaters (S. 347). Der Unterschied der Laubfarbe ist demnach genomatisch bedingt, nicht an die Struktur der Plastiden geknüpft, wie es bei den Abstammungsverhältnissen der beiden homozygotischen Stämme ja gut zu verstehen ist. Der Bastard zwischen den beiden Linien bildet natürlich einen 4er-Ring und 5 Paare (Japha, S. 347; vorausgesagt von Cleland 1932, S. 578); in ihm ist die ursprüngliche Rasse von Carmel Beach wohl wieder synthetisiert. — Über eine Kreuzung des Bastardes *Oe. franciscana* de Vr. × *franciscana* Em. u. St. mit *Oe.* „Jowa 6" berichtet Cleland (1935, S. 479 u. a.).

Die Erfahrungen der amerikanischen Cytologen veranlaßten mich, auch meinen Stamm wieder zu untersuchen (1936); vier Individuen hatten sieben Paare. Die Linie mit dem Viererring ist also in Amerika, in Holland und in Deutschland verloren gegangen, und an ihrer Stelle sind jetzt zwei homozygotische Rassen in Kultur.

Im züchterischen Verhalten machte uns die *Oe. franciscana* auch zu der Zeit, als sich bei ihr der 4er-Ring fand, durchaus den Eindruck einer homozygotischen Sippe; allerdings beobachteten wir vorzugsweise die Verbindungen mit der ähnlichen *Oe. Hookeri*, und F_2-Generationen überhaupt nur von den Kreuzungen mit *Oe. Hookeri* (Hoeppener u. R. 1929, S. 65). Davis, der die Art viel genauer studiert hat, fand in der Kreuzung mit *Oe. biennis* ♂ verschiedene Typen, die sich in der Größe der Blüten und der Blätter etwas unterschieden (1916, S. 229) — mit unserer *biennis* München war die Kreuzung nicht lebensfähig, weil sie zu wenig Chlorophyll bildete —, und auch aus einem anderen, nicht gerade zwingenden Grund neigte er zu der Annahme, daß die Rasse B nicht so rein sei wie die Rasse E (1916, S. 228). In den F_2-Generationen der Kreuzung mit *Oe. biennis* ♂ traten *franciscana*-ähnliche Pflanzen auf (Davis 1916, S. 232; de Vries 1918, S. 412, und Op. Coll. 7, S. 281), aber der Befund ist nicht ganz eindeutig, weil Chromosomenaustausch der Grund sein kann, wie bei *rubiflava* (vgl. unten).

Bei der Diskussion der Ergebnisse von Davis machten wir (Hoeppener u. R., S. 56) den Fehler, die Befunde an der Rasse B nicht getrennt von denen an der Rasse E zu betrachten. Wenn Davis z. B. in der F_2 von *Oe.* (*biennis* × *franciscana*) *albata* nur *franciscana*-artige Pflanzen fand (1916, S. 226; 208 Stück), spricht das entschieden für die Homozygotie der betreffenden *franciscana* (vgl. Hoeppener u. R., S. 56). Aber hier handelt es sich um die Rasse E, nicht um die Rasse B, die uns vorlag und die auch von Cleland und de Vries ver-

wendet war. Eine F_2 aus *Oe.* (*biennis* × *franciscana* B) *albata*, 51 Pflanzen umfassend, scheint zur Hauptsache aus *albata* bestanden zu haben (Davis 1916, S. 243); hier sind also vielleicht keine *franciscana*-Homozygoten aufgetreten, was aber bei der schlechten Keimung der Samen nicht viel sagt. Ein sehr auffälliger Unterschied zwischen den beiden *franciscana*-Rassen besteht darin, daß die Verbindung der Rasse B mit *rubens* aus *Oe. biennis* Stumpfkelche abspaltet (Davis 1916, S. 230, Fig. 14 u. 15), die der Rasse E nicht (S. 219, 230); B besitzt also das Chromosom 5 · 6 (ebenso der Stamm von Emerson u. Sturtevant; 1931, S. 402), E besitzt es nicht.

Am wahrscheinlichsten ist nach den vorliegenden Erfahrungen wohl folgende Deutung der Zusammenhänge. *Oe. franciscana* E von Davis wurde von vornherein als homozygotische Sippe in Kultur genommen; daß in Kalifornien zahlreiche homozygotische, in der Diakinese 7 Paare bildende Formen vorkommen, die der *O. Hookeri* nahestehen, hat Cleland (1935, z. B. S. 426; 1940, S. 638 f.) nachgewiesen. *Oe. franciscana* B von Davis war ursprünglich, als sie von Bartlett isoliert wurde, ein Bastard zwischen zwei solchen sehr ähnlichen Sippen, deren Genome sich durch eine reziproke Translokation unterschieden, oder gar eine schon am Standort vorzugsweise als Heterozygote vorkommende Rasse (vgl. Cleland 1940). Der Bastard spaltete die homozygotischen Elterformen ab, aber weil die Heterozygoten sich rascher entwickelten als die Homozygoten — von *Oe. Lamarckiana* mut. *rubrinervis* und mut. *deserens* ist dieses Verhalten wohl bekannt —, wurden längere Zeit nur Heterozygoten zur Nachzucht und für zytologische Untersuchung verwendet; nur Kulkarni studierte die Meiose an Heterozygoten und an Homozygoten. Später wurden dann zufällig und unabsichtlich doch beiderlei Homozygoten ausgelesen, die jetzt allein in Kultur sind.

Worauf es uns hier ankommt: die homozygotischen Sippen *Oe. franciscana* de Vries und *franciscana* Emerson u. Sturtevant gingen aus der heterozygotischen *Oe. franciscana* B von Davis, wenn der historische Sachverhalt richtig rekonstruiert ist, durch homozygotische Extraktion zweier Genome hervor, die von vornherein frei von letalen Elementen waren. Strukturänderungen der Genome durch Umkombination oder durch Mutation liegen nicht vor.

Anhang: Oe. „franciscana sulfurea".

Die zuerst als *Oe. franciscana sulfurea* bezeichnete Form ist in der F_2 der Kreuzung *Oe. biennis* (aus Holland) × *franciscana* (Linie B von Carmel Beach in Kalifornien) im Jahr 1914 bei Davis entstanden, als

einzige *sulfurea*-Pflanze neben 50 sattgelben (Davis 1916, S. 243), also wohl als crossover von der Konstitution s-*albicans* · s-^{h}*franciscana;* die holländische *Oe. biennis* trägt ja wie die meisten *biennis*-Sippen den rezessiven s-Faktor im Eizellenkomplex. Sie wird großblütig und deshalb der *franciscana* besonders ähnlich gewesen sein — von Nachkommen dieser Pflanze gibt Shull (1923, S. 156) das ausdrücklich an —, aber daß sie fast ganz grüne, nicht rote Kelche besaß, ging schon aus den Angaben von Emerson (1931 a) über spätere Generationen hervor, und Davis (1937, S. 119 ff,) beschreibt das erste Individuum ausdrücklich als grünkelchig. Bei Pflanzen, die in den Kulturen von Davis im Jahr 1920 gesammelt waren, fand Cleland (1924, S. 156; 1928, S. 556) einen 12er-Ring und ein Paar, also die Konfiguration einer *albata*. Davis (S. 122) sah dieselbe Konfiguration noch in einer viel späteren Generation (1935: ebenso bei einer wenig verschiedenen Form von der Zusammensetzung s-*albicans* · S d-^{h}*franciscana*, 1928 und 1934, S. 118). Damit stimmt überein, daß, wie Davis sich ausdrückt, der Faktor „grüner Kelch" mit einem Letalfaktor gekoppelt ist, was sich in der Bildung von über 50% inaktiver Pollenkörner ausdrückt. Der Komplex *albicans*, der die durch P bedingte Rotfärbung der Kelche immer zurückdrängt, ist ja polleninaktiv. Daß die Bezeichnung *franciscana* ein „misnomer" war, betont Davis später selber (1937, S. 119). — Das Paar dürfte 8 · 9 sein (vgl. unten).

In den Kulturen von Shull, der die Bastardrasse 1918 von Davis erhielt (Shull 1923, S. 156, 163; er nennt die Form richtiger, als es sonst geschah, „near-*franciscana*"), trat auf verwickeltem Weg (vgl. Davis 1937, S. 109) homozygotische hochwüchsige *franciscana sulfurea* auf, die diesen Namen wirklich verdient. Denn Cleland (1928, S. 556) fand an Material, das 1924 und 1925 bei Shull gesammelt war, 7 Paare, und ebenso Illick (1929, S. 614) ebenfalls bei Pflanzen von 1925. Was Emerson um dieselbe Zeit (1923) als „*franciscana sulfurea*" von Davis übernahm, waren noch *albata*-Heterozygoten, aber der Stamm war bald in doppelter Hinsicht verändert: die Konfiguration war ein 10er-Ring und zwei Paare[1]), und die abgespaltenen Homozygoten waren zwergig (Emerson 1928 a, S. 118). Er nennt diese später sulfur dwarf (1931 a, S. 327; 1931 b, S. 382) und hebt hervor, daß sie rote Kelche haben. Der Staturfaktor dieser Schwefelzwerge hat mit dem *nanella*-Gen und mit dem Chromosom 3 · 4 nichts zu tun; er wird d (für dwarf; Emerson 1931 b, S. 382)

1) In der kurzen Mitteilung von 1928 gibt Emerson noch 12 + 2 an, aber 1931 a, S. 327, stellt er 10 + 2 × 2 fest, ohne auf die frühere Angabe zurückzukommen.

genannt, bewirkt weniger extreme Verzwergung (Emerson 1936, S. 320) und soll im Chromosom 13 · 14 lokalisiert sein (Emerson u. St. 1932, S. 400). Die Segmentanordnung in s d-^{h}*franciscana* ist, wie die Konfiguration der Kreuzung mit gewöhnlicher *franciscana* (7 Paare, S. 339) zeigt, nicht verändert. — Wann der Zwergfaktor d entstanden ist, geht auch aus der ausführlichen Arbeit von Davis (1937) nicht mit Sicherheit hervor; nach den Daten der Tab. 8, S. 120, wird die Mutation zwischen 1914 und 1921 eingetreten sein.

Den Eizellenkomplex der „*franciscana sulfurea*" nennt Emerson (1931 b, S. 382) *sulfurens*. Die beiden Chromosomen, die *sulfurens* mit ^{h} *franciscana* gemeinsam hat, werden als 8 · 9 und 7 · 10 identifiziert (E. u. Sturtevant 1931, S. 407), ein auch in *flavens* vorkommendes Chromosom als 1 · 4 oder 2 · 3. Es ist zu vermuten, daß *sulfurens* im wesentlichen noch *albicans* ist, mit den Chromosomen 1 · 4 und 8 · 9, aber mit einer Translokation, die die in *albicans* nicht vorkommende Segmentkombination 7 · 10 geschaffen hat; wäre auf die früher (R. 1938, S. 320) gegebene Formel Verlaß, so wäre das zweite translozierte Chromosom 6 · 14. Die Konfiguration der Verbindungen von *sulfurens* mit *gaudens* und mit *velans* ist dieselbe wie die der *albicans*-Verbindungen, nämlich 6 + 8 und 14 (E. u. St., S. 400 f.). — Wenn, wie Davis angibt, in seinen Kulturen der Typus F, d. h. die „*franciscana sulfurea*" die ursprüngliche Konfiguration 12 + 2 bewahrt hat, sollte diese Form als s-*albicans* · s d-^{h}*franciscana* bezeichnet werden, statt wie bei Davis (z. B. S. 119) als s d-^{h}*franciscana* · *sulfurens*.

Emerson hat dem polleninaktiven Komplex *sulfurens* zuerst (1931 a, S. 339) ein Gen Gr = grüner Kelch zugeschrieben, das über gr = roter Kelch von s d-^{h}*franciscana* dominiert. Später (1931 b, S. 389) erkannte er, daß Gr identisch ist mit p, dem rezessiven Allel des Faktors P, der rote Tupfen am Stengel und rote Kelchfärbung bedingt. Spuren von Pigmentierung des Kelchs kommen bei „*franciscana sulfurea*" tatsächlich vor (1931 a, S. 326, Fig. 1; 1931 b, S. 390 und Fig. 2 auf S. 391). Auch sonst ist die Kelchfärbung der Verbindungen von *albicans* mit Komplexen, die P besitzen, verhältnismäßig schwach, während die Rotfärbung der Haarbasen als Stengeltupfung immer in voller Stärke zum Ausdruck kommt. Es bleibt also dabei, daß *sulfurens* nur ein etwas veränderter *albicans*-Komplex ist, und ich werde die Form weiterhin *albifranciscana sulfurea* nennen, obwohl die echte *albifranciscana*, mit unverändertem *albicans*, nur noch bei Davis zu finden ist.

Unklar scheint Emerson das Wesen eines Faktors geblieben zu sein, den er Spl = splashed bud cones nennt (1931 a, S. 327, 339).

Nach meinen Erfahrungen zu urteilen, handelt es sich bei den ziemlich seltenen splashed-Pflanzen, die aus selbstbestäubter (Tabelle 9, 12) oder mit Pollen von homozygotischer *franciscana* (Tab. 1, 10) bestäubter *albifranciscana* hervorgingen, mindestens teilweise um P P-*albata*-Individuen, die auf dem Weg des crossing-over P-*albicans* erhalten haben. Sie besitzen verhältnismäßig stark gefärbte (rot „gespritzte") Kelche und spalten immer (Tab. 14) einen noch stärker pigmentierten Typus, nämlich homozygotische *franciscana*, ab. Die splashed-Pflanzen der Kreuzung *franciscana* × *albifrancisc ,a* (Tab. 11) können aber keine *albata* sein, weil *sulfurens* im Pollen nicht aktiv ist. Sie sind vielleicht P p-*franciscana*, denen durch den Pollen das Korrelat zu P-*albicans*, also p-^{h}*franciscana*, zugeteilt worden ist. Dieselbe Form könnte natürlich auch in den zuerst genannten Familien neben P P-*albata* auftreten. Daß P p-*franciscana* und P P-*albifranciscana* ähnlich schwach gefärbte Kelche zeigen, erscheint wohl möglich. In geringer Zahl wären dann auch p-Homozygoten mit ganz grünen Kelchen, besonders p p-*albifranciscana*, weniger p p-*franciscana*, zu erwarten; beobachtet wurden sie nicht. — Die Koppelungsverhältnisse zwischen Spl, Gr und s, die Catcheside (1933, S. 66) nach Emerson (1931 a, S. 340) als einen besonders klaren Fall hinstellt, reduzieren sich also auf das Verhältnis zwischen p und s. An anderer Stelle wird darauf zurückzukommen sein.

Auch Davis hat unter den Nachkommen von S s-*albifranciscana* wiederholt Individuen angetroffen, die P P-*albifranciscana* gewesen sein müssen. Er erkennt diese „yellow tall reds", die schwächer gefärbte Kelche als *franciscana* und dazu 50% schlechten Pollen haben (1937, S. 154, 155), als crossovers, denkt aber an die Übernahme von D samt einem Pollenletalfaktor aus s D-*albicans* in S d-^{h}*franciscana*. In einer Studie über das crossing-over bei *Oenothera* soll auf dieses wertvolle Material von Davis genauer eingegangen werden.

Auffällig ist an der *albifranciscana*, wie gut sich hier *albicans* (in den Versuchen von Davis) und *sulfurens* = modifiziertes *albicans* (in den Versuchen von Emerson) bei der Embryosackbildung gegenüber ^{h}*franciscana* gewöhnlich durchzusetzen vermögen; sonst wird ja *albicans* durch die Genome der homozygotischen Arten weitgehend aus den Embryosäcken verdrängt, und das gilt auch für *Oe. franciscana* Linie E von Davis (vgl. dazu die Bemerkung bei Hoeppener u. R., S. 56, zu Davis 1917, S. 172). *Albicans* und *sulfurens* sind in den Eizellen oft so häufig wie ^{h}*franciscana*, mitunter sogar häufiger (vgl. die Diskussion bei Emerson 1931 a, S. 341 f., aber auch 1931 b, S. 386 ff.; außerdem die reichen Daten bei Davis 1937, S. 111, 115 f., 120 f., 140, 144 f., 152); ob die

Unterschiede der Häufigkeit durchweg auf Differenzen der Konstitution beruhen, ist fraglich, weil auch genotypisch einheitliches Material sich nicht immer gleich verhält. Vermutlich hat der *albicans*-Komplex schon früh das 8·9-Chromosom von ^{h}-*franciscana* übernommen, im Tausch gegen das eigene 8·9, das den rezessiven Behaarungsfaktor pil beherbergt — der sichere Nachweis dafür, daß pil in 8·9 liegt, wäre erbracht, wenn die F_2 der *biennis* × *franciscana* von Emerson bräunlich behaarte pil pil-Pflanzen abspalten würde —, und das macht ihn in der Konkurrenz mit ^{h}*franciscana* vielleicht leistungsfähiger. Warum freilich in der ersten F_2-Generation des Bastardes *Oe.* (*biennis* × *franciscana*) *albifranciscana* nur eine einzige *albata* neben 50 *franciscana* auftrat (Davis 1917, S. 120), ist nicht zu verstehen, wenn Davis in den späteren Generationen wirklich noch *albicans* vor sich gehabt hat und nicht *sulfurens* wie Emerson. — Das Unterliegen von *albicans* gegenüber den homozygotisch lebensfähigen Komplexen ist bei der Analyse oft sehr störend, und vielleicht ist in der Kreuzung mit der *franciscana*-Rasse von Emerson ein Mittel gegeben, das diesen Mißstand zu vermeiden erlaubt.

II. Hybridogene Homozygoten.

1. Oe. lutescens = flavens · flavens.

a) Lutescens aus rubens · flavens.

Aus *Oe.* (*biennis* × *suaveolens*) *rubiflava* und aus der reziproken Verbindung *flavirubata* spaltet bei Selbstbestäubung in großer Zahl, oft häufiger als die rotnervige *rubiflava*, ein weißnerviger Typus heraus, der nach de Vries als *lutescens* zu bezeichnen ist. Er stellt die *flavens*-Homozygote dar (Oehlkers 1923, z. B. S. 258; R. 1925, S. 24; R. 1927) und bildet in der Diakinese 7 Paare (Hoeppener u. R. 1929, S. 68). Wie die *rubiflava* der F_2, hat auch die *lutescens* in den vollkommensten Familien (vgl. unten) teils spitze Laubblätter und Blütenknospen wie die erste Bastardgeneration, teils auffallend stumpfe. Die spitzkelchigen Typen, sowohl *rubiflava* wie *lutescens*, spalten immer, die stumpfkelchigen sind konstant. Spitzkelchige *lutescens* (R. 1925, S. 25, Fig. 19) ist also zwar schon komplexhomozygotisch *flavens* · *flavens*, aber noch faktorheterozygotisch Sp sp, und erst stumpfkelchige *lutescens* (Abb. 1) ist die vollkommene Homozygote sp-*flavens* · sp-*flavens*. Der rezessive Faktor sp stammt aus *rubens*, mit seinem dominanten Allel Sp ist in *flavens* der Letalfaktor dieses Komplexes gekoppelt, und durch Einfügung von sp anstelle von Sp wird *flavens* homozygotisch lebensfähig.

Der Bastard *rubiflava* zeigt in der Diakinese einen 14er-Ring und ein freies Paar (Hoeppener u. R., 1929, S. 68). Die Chromo-

somen dieses Paars sind als 5·6 definiert (Cleland u. Blakeslee 1931, S. 220; Emerson u. Sturtevant 1931, S. 403, 411), und die Entstehung von *lutescens* aus *rubiflava* beruht auf dem Austausch dieses 5·6-Chromosoms zwischen *rubens* und *flavens* (Emerson u. Sturtevant 1931, S. 411; R. 1933, S. 238). Darlington (1931, S. 443; 1932, S. 411; 1937, S. 351f.) meint, auch hier, wie bei der Entstehung von *ochracea* aus *grandiflora*, liege crossing-over zwischen den Mittelteilen der Chromosomen vor, die Sp bzw. sp enthalten. Aber nach meinen Erfahrungen besteht kein Anlaß zu dieser Deutung. Alle Komplexe, die das Chromosom 5·6 besitzen, können aus *rubens* den Stumpfkelchfaktor übernehmen. Wenn sie von vornherein frei von Letalfaktoren sind, wie ^{h}*Hookeri*, ^{h}*purpurata*, ^{h}*deserens*, ^{h}*blandina*, ändert die Aufnahme von sp nichts an ihrem zygotischen Verhalten. Der Komplex *flavens* dagegen wird seines Letalfaktors beraubt, wenn er sich irgend ein 5·6-Chromosom ohne Letalfaktor im Tausch einverleibt. In der *rubiflava* ist dieser Tausch leicht zu beobachten, weil er der einzige hier vorkommende ist. In den Verbindungen von *flavens* mit ^{h}*Hookeri*, ^{h}*deserens*, ^{h}*blandina* werden sicher ebenfalls *flavens*-Keimzellen ohne Letalfaktor gebildet, aber typische *lutescens* = *flavens* · *flavens* kommt in der F_2 selten vor, weil die Aufspaltung reich ist.

Abb. 1. Oe. M M sp-lutescens. 10. Aug. 1927. Aus Familie 1440.

Der Vollständigkeit halber mag erwähnt sein, daß Sp-*rubens* mit Sp-*flavens*, wie zu erwarten war, taube Samen gibt (Hoeppener u. R. 1929, S. 70ff.), wenn das ganze 5·6-Chromosom ausgetauscht ist. Die von Letalfaktoren freien Komplexe ^{h}*Hookeri* usw. verhalten sich sicher

entsprechend; wenn sie das 5·6 von *flavens* einlagern, werden sie unfähig, mit normalem *flavens* oder mit einem beliebigen Komplex, der dasselbe letale Chromosom besitzt, lebensfähige Zygoten zu bilden.

Der Zusammenhang zwischen dem Letalfaktor von *flavens* und den Blattform-Allelen Sp—sp war nur bei der kräftigen und gut fruchtbaren *flavirubata* klar zu erkennen, die ihr Plasma und ihre Plastiden von *Oe. muricata* herleitete, und auch in diesem Stamm kamen Familien vor, in denen *lutescens* fehlte (Nr. 1404, 1406, 1415). Durch Inzucht ist die *lutescens* auch dann, wenn sie *muricata*-Plastiden besitzt, nicht leicht über mehrere Generationen hin zu erhalten (Nr. 1437 bis 1442); zuerst war sie ziemlich gut fruchtbar (vgl. 1927, S. 76, Nr. 609 und 610). Wie Hiorth (1926, S. 218 ff.) nachgewiesen hat, werden viele Embryonen der *lutescens*, besonders nach Kreuzung der *lutescens* mit *suaveolens*, durch eine Art Selbstverdauung in den jungen Samen zerstört.

Besonders unregelmäßig war das Verhalten einer als M sp-*flavens*·P r-*rubens* entstandenen r M P sp-*flavirubata* (Nr. 1426—1433). In zwei Generationen brachte sie nach Selbstbestäubung sehr wenige keimfähige Samen, und daraus nur P-*flavirubata*, keine pp-*lutescens*. Die Verwendung des zuerst aufgetretenen crossover-Individuums als Vater in verschiedenen Kreuzungen zeigte, daß M-*flavens* im Pollen nicht aktiv war. In der dritten Inzuchtgeneration (Nr. 1428) erschienen dann wenige M M p p sp sp-*lutescens*, hier waren also funktionstüchtige *flavens*-Pollenkörner vorhanden.

Nun hörte aber der *flavirubata*-Stamm, der bis dahin regelmäßig Stumpfkelche abgespalten hatte, von F_{12} an auf, sp-Homozygoten zu erzeugen, während er weiter *lutescens* produzierte (Nr. 1406 ff.). Auch bei Kreuzung mit *Oe. biennis* München entstanden nur Spitzkelche (Nr. 1411), aber diese erwiesen sich nun wieder als Sp sp (Nr. 1412).

Das dominante Gen Sp ist also einmal durch crossing-over von *flavens* auf *rubens* übergegangen, und es erweist sich, daß diesem Gen die Letalwirkung des 5·6-Chromosoms von *flavens* nicht zukommt, daß vielmehr der rezessive Letalfaktor mit Sp nur gekoppelt ist. Vermutlich verhalten sich andere dominante „Letalfaktoren", wie der Rotnervenfaktor von *rubens*, nicht anders. — Es ist anzunehmen, daß crossing-over von Sp-sp in *rubiflava* öfter vorkommt. Erkannt wird es ja nur, wenn eine Sp Sp-Pflanze zur Weiterzucht verwendet wird, weil Sp vollkommen über sp dominiert.

Weil schon von crossing-over zwischen *flavens* und *rubens* die Rede ist, mag hier erwähnt werden, daß der Zwergfaktor n einmal von *rubens* auf *flavens* übergegangen ist (Nr. 1442) und daß auch das

Korrelat, nämlich der Übergang des dominanten Allels N von *flavens* auf *rubens* (genauer P- *rubens*) zweimal gefunden wurde (Nr. 1431, 1433). Auffällig ist nur, daß der Vorgang so selten beobachtet wurde, denn Abspaltung von *nanella*-Typen kommt wohl in allen n-*rubens*-Verbindungen vor, und in manchen recht häufig.

Die primären Bastarde *Oe. (biennis* × *suaveolens) rubiflava* und *Oe. (suaveolens* × *biennis) flavirubata* sind meist gelbgrün und schwach und bringen bei Selbstbestäubung meist blasse Sämlinge, die großenteils in den Keimschalen sterben und von denen überraschenderweise meist mehr r-*lutescens* als R-*rubiflava* bis zur Blüte erzogen werden können (R. 1917, S. 196; Oehlkers 1923, S. 235; neue Belege Nr. 1417 a bis 1425b). Stumpfkelche sind bei Verwendung von *Oe. biennis* München nie gefunden worden, weder als *rubiflava* noch als *lutescens*, vermutlich gehen also gerade die sp-Homozygoten vorzugsweise zugrunde; ob erst nach der Keimung oder schon in den Samen, ist nicht zu entscheiden. Auch die *flavirubata* aus *Oe. biennis cruciata* brachte wenig Stumpfkelche (Nr. 1425 a, b). Eine *flavirubata*, die aus der Kreuzung einer abgeleiteten *albiflava* mit *biennis* gewonnen war, spaltete sp-*flavirubata* ab, brachte dafür aber keine *lutescens* (Nr. 1424, 1925). Eine spontan entstandene *flavirubata* von Friedrichshagen brachte wenige sp-*flavirubata* und nicht lebensfähige *lutescens* (oben Nr. 1398).

Eine allmähliche „Erholung", d. h. Erstarkung durch besseres Ergrünen, der primären blaßgrünen *flavens* · *rubens*-Verbindungen im Laufe einiger Generationen, wie sie Schwemmle (1935; 1938, S. 590 ff.) bei Bastarden von Eu-*Oenothera* beobachtet hat, findet sicher nicht statt. Die früher (R. 1937, S. 647) angekündigte Versuchsreihe ist bei *rubiflava* nicht über F_5 und bei *flavirubata* nicht einmal über F_4 hinausgekommen, weil die Wüchsigkeit und Fruchtbarkeit der Bastarde eher ab- als zunahm (Nr. 1421, 1423). Eine Abnahme der Vitalität verlangt natürlich ebenso eine Erklärung wie eine Zunahme. Es liegt nahe, an Homozygotwerden in gewissen Defektgenen zu denken.

Die Nachkommenschaften der Kreuzung *flavirubata* (mit Plastiden von *Oe. muricata*) × *muricata* sind insofern bemerkenswert, als augenscheinlich selektive Keimungshemmung der *flavicurva* vorliegt. Schon bei der ersten Aufzucht der Kreuzung wurden gefunden „20 *rubicurva*, keine *flavicurva* (wohl zufällig)" (R. 1925, S. 27, Nr. 57), während andere Verbindungen zeigten, daß mehr *flavens*- als *rubens*- Embryosäcke vorhanden sind (z. B. l. c. Nr. 53, 54). Die Wiederholung ergab ein paar Jahre später ähnliche Resultate (unten Nr. 1416, 1417), und das

Interessanteste ist, daß von derselben Samenprobe im ersten Frühjahr nach der Ernte keine *flavicurva* keimte, im dritten Jahr dagegen etwas mehr *flavicurva* als *rubicurva* (Nr. 1417). Daß das Keimprozent im zweiten Jahr höher ist als im ersten, habe ich in der letzten Zeit wiederholt bei schlecht keimenden Verbindungen beobachtet. Im Freien kommt Überliegen von Oenotherensamen oft vor.

b) Lutescens aus gaudens · flavens.

Der Komplex *gaudens* der *Oe. Lamarckiana* unterscheidet sich von *rubens* im wesentlichen dadurch, daß er in seinem 5 · 6-Chromosom einen Spitzkelchfaktor besitzt, nicht sp wie *rubens*. Die F_2 der *flavilaeta* und der *laetiflava* spaltet deshalb wohl *lutescens* ab — die der *flavilaeta* sehr ähnlich, doch gröber behaart ist — aber keine Stumpfkelche (Oehlkers 1913, S. 237; R. 1925, S. 32 f.). Ob das Sp von *gaudens* (Sp^{gau}) homozygotisch verwirklicht werden kann, im Gegensatz zu dem Sp von *flavens*, ist an dieser Kreuzung nicht sichergestellt, weil die Prüfung hier nicht einfach ist. Aber andere Erfahrungen, z. B. an der Verbindung *hblandina · gaudens*, zeigen, daß *gaudens* im 5 · 6-Chromosom keinen Letalfaktor besitzt. — Cleland u. Oehlkers sprechen von „seltenem (im Original nicht gesperrt) Austausch von Sp — sp "(gemeint ist Sp^{fla} — Sp^{gau}) bei *flavilaeta* (1930, S. 120), und in einer kürzeren Zusammenfassung ihrer Ergebnisse vergleichen sie die Abspaltung von *lutescens* aus *flavilaeta* mit der aus suaveolens (1929, S. 506 f.). Somit nahmen sie damals keine Beziehung zwischen diesem Austausch und dem freien Paar an. Aber später, seit 1931 (vgl. oben), war kaum mehr ein Zweifel über den Sachverhalt auch bei *flavilaeta* möglich.

Wenn *flavens* mit P-*gaudens* verbunden wird (wobei *gaudens* den P-Faktor durch crossing-over aus *velans* erhalten hat), unterscheidet sich in der F_2 die ungetupfte, schmalblättrige pp-*lutescens* besonders auffällig von der breitblättrigen, grobgetupften Pp-*flavilaeta* (Nr. 1436).

c) Getupfte lutescens aus velans · sp-flavens.

Da der Komplex *velans* der *Oe. Lamarckiana* das Chr. 5 · 6 nicht besitzt, kann *flavens* sein Letalchromosom nicht an *velans* abstoßen (vgl. dazu unten S. 230). Dagegen kann *lutescens* natürlich aus *velutiflava* entstehen, wenn sp-*flavens* mit *velans* verbunden wird, und da das Chromosomendublett 1 · 4 + 2 · 3 von *flavens* durch 1 · 2 + 3 P 4 von *velans* ersetzbar ist (R. 1933, S. 238), kann die *lutescens* pp, Pp oder PP besitzen. Auch solche P-*lutescens* hat immer viele taube und mitunter wenige keimfähige Samen (Nr. 1443—1446). Ob die Pp-*lutescens* gewöhnlich keine PP-Individuen, also Vollhomozygoten, abspaltet,

wie es in den Familien Nr. 1444 und 1445 der Fall gewesen zu sein scheint, ist nicht genauer geprüft; daß die Vollhomozygote zwar schwach, aber doch lebensfähig ist, ist sicher (Nr. 1443 u. a.).

d) Lutescens aus Oe. (muricata × suaveolens) rigens · flavens.

Daß aus dem Bastard *rigiflava* bei Selbstbestäubung und bei Rückkreuzung mit *Oe. suaveolens* ♂ regelmäßig *lutescens*-Typen hervorgehen, habe ich früher mitgeteilt (R. 1925, S. 59 ff.). *Rigens* besitzt, wie vor allem die Abspaltung von Stumpfkelchen aus *rigirubata* dartut (R. 1925, S. 55), das Chromosom 5 · 6 und darin einen Spitzkelchfaktor, Sp^{rig}. Wird das 5 · 6-Chromosom von *rigens* in *flavens* eingefügt, so kann der so abgeänderte *flavens*-Komplex mit unverändertem *flavens* lebensfähige *lutescens* konstituieren, die in der pp-Form recht schwach ist (R. 1925, S. 61, Nr. 228, 233, 236, 239; neue Belege dafür unten, Nr. 1447 bis 1449), dagegen als Pp, mit 1 · 2 + 3P4 aus *rigens* ausgestattet, zwar etwas gelbgrün aber kräftig im Wuchs erscheint (R. 1925, S. 61, Nr. 228, 233, 236, 239). Sowohl das 5 · 6- wie das 3 · 4-Chromosom machen die Pollenkörner inaktiv, die *lutescens* kann also weder in Sp^{rig} homozygotisch sein (vgl. Hoeppener u. R. 1929, S. 68 f.; die beiderlei Eizellen sind durch Verbindung mit *rubens* unterscheidbar zu machen), noch in P. Von einer P-*lutescens* (in der Familie Nr. 1450) wurde die Diakinesekonfiguration als 4er-Ring und fünf Paar eermittelt, wie zu erwarten war. Der Ring enthält 1 · 4 + 2 · 3 von *flavens* und 1 · 2 + 3 P 4 von *rigens*.

Wenn in *rigens* das 3 · 4-Cromosom von *velans* eingefügt wird, das außer roten Stengeltupfen auch rote Kelchstreifen vererbt (der maßgebende Faktor ist deshalb von mir P Str genannt, R. 1925, S. 67; von Emerson, 1931, S. 392, als P^s bezeichnet; dem Tupfenfaktor von *rigens* habe ich, weil er nur leicht rot überlaufenen, nicht rot gestreiften Kelch vererbt, das Symbol P str gegeben, wofür Emerson einfach P schreibt), sollte PP-*lutescens* möglich sein. Daß sie nicht gefunden wurde (Nr. 1451), gehört zu den bei *lutescens* gewöhnlichen Ausfallserscheinungen.

Bis jetzt ist es nicht gelungen, eine *lutescens* herzustellen, die auch nur annähernd so wohl erhaltungsfähig wäre wie die komplexheterozygotischen und die spontanen homozygotischen Sippen. *Flavens* muß also außer seinem Letalfaktor noch andere wenn auch nicht letal, so doch ungünstig wirkende Genomelemente enthalten, ähnlich wie der Pollenkomplex *flectens* der *Oe. atrovirens* (früher *Oe. cruciata* genannt) mehrere subletale Faktoren enthält (R. 1933, S. 219 f.).

Belege.

Oe. R M-flavirubata = M-flavens · R-rubens.

Herkunft: Eine *curvirubata* komplizierter Herkunft, vergleichbar einer metaklinen *curvans · rubens* aus *Oe. muricata* × *biennis* München, mit Plasma und Plastiden von *Oe. muricata* (vgl. R. 1925, S. 75; S. 31/32, Nr. 299), wurde mit dem Pollen einer *M-suaveolens* belegt (21/32; vgl. 1925, S. 75, Nr. 294). Diese *suaveolens* stammte aus der Kreuzung *Oe. suaveolens* normal × (*suaveolens* × *muricata*) *flavicurva* weiß-grün chimärisch (20/38; vgl. 1925, S. 19, Nr. 2), hatte also, wie auch das weitere Verhalten beweist, in ihrem *flavens* das normale Sp, weil *flavens* und *curvans* die Sp-Faktoren nicht tauschen, besaß aber das M[1]) von *curvans*, was für die Verfolgung der Nachkommenschaft gewisse Vorteile mit sich bringt. Von der aus *curvirubata* × M Sp-*suaveolens* gewonnenen R sp Sp M-*rubiflava* wurden auf dem Weg der Selbstbestäubung bis 1924 drei Folgegenerationen aufgezogen (F_4 vgl. 1925, S. 27; 24/69, Nr. 49 a). Eine solche M Sp-*rubiflava* gab mit der schmalblättrigen m Ta-*muricata* ♂ gekreuzt schmalblättrige *flavicurva* = M *flavens* · m Ta-*curvans* (25/12; vgl. R. 1936, S. 449, Nr. 653; die Mutter war dort als sp-*rubiflava* bezeichnet, aber nach dem Verhalten der Nachkommenschaft muß das ein Versehen gewesen sein). M m Ta-*flavicurva* (aus 25/12) × *biennis* München gibt *flavirubata*, als M und m, als B und Ta (26/109; vgl. R. 1936, S. 450, Nr. 660). Eine typische Pflanze von der Konstitution M B Sp-*flavens* · R-*rubens* wurde zur Weiterzucht verwendet. Der Stamm hat also dasselbe M Sp-*flavens* wie die früher bis zu F_4 kultivierte Sippe, und er hat auch Plasma und Plastiden von *Oe. muricata*. Dieses M-*flavens* lebte nur eine Generation lang mit Ta-*curvans* zusammen, dann wurde es wieder mit *rubens* verbunden. Ta-*curvans* könnte nur wieder *muricata*-Plastiden mit dem Pollenschlauch in die Zygote gebracht haben. Die *biennis*-Plastiden werden in der *flavirubata* durch ihre blasse Färbung sofort kenntlich, und zur Weiterzucht wurde eine rein grüne Pflanze verwendet. Rechnen wir die Generation der Ta-*flavicurva* nicht mit, so hat M-*flavens* bis zu der Familie 26/109 vier Generationen lang mit *rubens* zusammengelebt. Die erste Generation der im folgenden mitgeteilten Versuche ist also, vom Anfang an gerechnet, die fünfte.

1399. R M B Sp sp-flavirubata (aus 26/109; Nr. 660) selbst: 63 Pfl., mehr M M r-lutescens als M R-flavirubata, beide teils Sp, teils sp. 27/160. Ist F_5.
1400. F_6 (aus 27/160 selbst): 109 Pfl., etwa gleich viel R-flavirubata und r-lutescens, teils Sp, teils sp. 28/232.
1401. F_7 (aus 28/232 selbst): 41 Pfl., viele Samen nicht gekeimt; mehr lutescens als R-flavirubata, Sp und sp. 29/138.
1402. F_8 (als 29/138 selbst): 45 Pfl.; R-flavirubata Sp und sp, und r-lutescens. 30/213.
1403. F_9 (aus 30/213 selbst): 143 Pfl., mehr r-lutescens als R-rubata, beide teils Sp, teils sp. 31/235.
1404. F_{10} (aus 31/235 selbst): 27 R-flavirubata Sp und sp; keine lutescens; 75 Samen nicht gekeimt. 32/214.
1405. F_{11} (aus 32/214 selbst): 71 Pfl., meist flavirubata, alle Sp. 33/163. — Nochmals gesät: 45 R-flavirubata, meist Sp, wenige sp, 20 r-lutescens. 35/66.
1406. F_{12} (aus 33/163 selbst): 53 R Sp-flavirubata, keine sp; keine lutescens. 34/85. Von hier an ist die flavirubata also Sp Sp.

---

1) M = marginat, roter Rand der Blätter.

1407. F_{13} (aus 34/85 selbst): 57 R Sp - flavirubata, keine sp; 5 r-lutescens. 35/67.
1408. F_{14} (aus 35/67 selbst): 45 Pfl., etwas mehr r-lutescens als R-flavirubata, alle Sp, keine sp. 37/27.

1409. F_{12} (aus 35/66 selbst, Nr. 1405, zweite Saat): 26 Pfl., gleich viel R-flavirubata und r-lutescens, alle Sp, keine sp. 36/24.
1410. F_{13} (aus 36/24 selbst): 58 Pfl., meist R-flavirubata, weniger r-lutescens, alle Sp. 37/25.
1411. R M Sp Sp - flavirubata F_{13} (aus 36/24) × biennis München: 53 R M Sp - flavirubata = M Sp - flavens · R m sp - rubens, 19 davon gelbscheckig. 37/26. Ist so viel wie F_{14}.
1412. R M Sp sp - flavirubata (aus 37/26, N. 1411) grün, selbst: 154 Pfl., mehr R-flavirubata als r-lutescens, beide teils Sp, teils sp. 38/45. Ist F_{15}.
1413. R M Sp sp - flavirubata (aus 38/45 selbst): 41 Pfl., R-flavirubata Sp und sp, und r-lutescens. 39/127. Ist F_{16}.
1414. R M Sp sp - flavirubata (aus 39/127) selbst: 27 R-flavirubata, davon 25 Sp, 2 sp; 2 r-lutescens. 40/42. Ist F_{17}.

1415. R M sp sp - flavirubata (aus 31/235) selbst: 20 R sp - flavirubata, keine r-lutescens. 32/215. Ist F_{10}.

1416. R M Sp sp - flavirubata (aus 25/47: R M Sp - flavirubata × r M sp - flavirubata; vgl. R. 1927, S. 77, Nr. 631) × r-muricata: 15 rubicurva, 1 flavicurva; 40 Samen nicht gekeimt, wohl flavicurva enthaltend. 26/253.
1417. R M sp Sp - flavirubata (aus 25/45: r M sp - flavirubata × R M Sp - flavirubata; vgl. R. l. c., Nr. 630) × R-muricata: 12 rubicurva, keine flavicurva; 40 Samen nicht gekeimt, wohl flavicurva enthaltend. 26/252. — Nochmals gesät: 55 Samen nicht gekeimt; 13 rubicurva, 15 flavicurva. 28/47.
1417a. R M Sp sp - flavirubata F_{10} (aus Nr. 1404) × r-muricata: 1 rubicurva, 2 flavicurva, etwa 150 Samen nicht gekeimt. 33/164.

Oe. R m - rubiflava aus Oe. biennis München × suaveolens.

1417b. Sp - rubiflava F_1 (aus 35/248) 1 selbst: 50 gelbgrüne Sämlinge, 32 ausgepflanzt, der Rest vorher gestorben; blühend 5 gelbgrüne schwache R-rubiflava und 25 ebensolche r-lutescens. 36/198. Wiederholt aus 1937a, S. 648, Nr. 2. Ist F_2.
1418. Sp - rubiflava F_2 (aus 36/198) selbst: 52 blasse Sämlinge in den Keimschalen eingegangen; im Beet 13 gelbgrüne schwache r-lutescens, alle Sp, keine sp, keine rubiflava. 37/59. Ist F_3.
1418a. Sp - rubiflava F_1 (aus 35/248) 2 selbst: 50 gelbgrüne Sämlinge, blühend 3 gelbgrüne schwache R-rubiflava und 28 ebensolche r-lutescens. 36/199. Wiederholt aus 1937a, S. 648, Nr. 3. Ist F_2.
1419. Sp - rubiflava F_2 (aus 36/199) selbst: 70 blasse Sämlinge eingegangen; im Beet 10 R-rubiflava und 17 r-lutescens, alle gelbgrün, schwach, Sp, keine sp. 37/60. Ist F_3.
1420. Sp - rubiflava F_3 (aus 37/60) selbst: 45 Samen nicht gekeimt; 45 Sämlinge gestorben; im Beet 1 R-rubiflava und 41 r-lutescens, alle schwach. 38/59. Ist F_4.
1421. Sp - rubiflava F_4 (aus 38/59) selbst: 35 Samen nicht gekeimt; 3 sehr schwache gelbgrüne Pflanzen. 39/122. Ist F_5. Der Stamm wurde nicht weitergeführt.

Oe. R m - flavirubata aus Oe. suaveolens × biennis München.

1421a. Sp - flavirubata F_1 (aus 35/250) selbst: 80 sehr blasse und schwache Sämlinge, meist sterbend; 9 bleiben am Leben und werden ausgepflanzt, davon 2 R - flavirubata und 7 r - lutescens, beide Formen gelbgrün und schwach. 36/200. Wiederholt aus 1937a, S. 648, Nr. 4. Ist F_2.

1422. Sp - flavirubata F_2 (aus 36/200) selbst: 41 blasse Sämlinge eingegangen, im Beet 13 R - flavirubata gelbgrün, 15 r - lutescens gelbgrün schwach, alle Sp. 37/61. Ist F_3.

1423. Sp - flavirubata F_3 (aus 37/61) selbst: 60 Samen nicht gekeimt; 56 blasse Sämlinge gestorben; im Beet 3 R - flavirubata und 37 r - lutescens, alle schwach. 38/60. Ist F_4. Der Stamm wurde nicht weitergeführt.

Oe. R m - flavirubata aus albiflava feinhaarig × biennis München.

Herkunft der albiflava aus R P - albidivaricata × suaveolens; vgl. 1925, S. 95, Nr. 416. Der flavens-Komplex, der hier allein in Betracht kommt, ist wohl normal.

1424. R m - flavirubata (aus 24/76) selbst: 40 Samen nicht gekeimt; 58 R - flavirubata, zuerst recht blaß, 38 Sp, ziemlich kräftig, 20 sp schwächer, fast nicht verzweigt; keine lutescens. 25/44.

1425. R m sp - flavirubata (aus 25/44) selbst: 30 Samen nicht gekeimt; 16 R sp - flavirubata, etwas gelblich, keine lutescens. 26/283.

Oe. R m - flavirubata aus Oe. suaveolens × biennis cruciata.

1425a. Sp - flavirubata F_1 (aus 26/209; vgl. R. 1937b, S. 120, Nr. 1008) breitkronig selbst: 24 R - flavirubata, 18 Sp, 6 sp; 24 r - lutescens, 22 Sp, 2 sp. 27/250. Wiederholt nach 1937b, Nr. 1011.

1425b. dieselbe × biennis cruciata: 35 flavirubata gelbgrün, 27 Sp, 8 sp. 27/251. Wiederholt nach Nr. 1012.

Oe. r M P sp - flavirubata = M sp - flavens · r P - rubens.

Herkunft des P - rubens: Ein crossover in der Kreuzung M R sp - flavirubata F_3 (aus 30/213; oben Nr. 1402) × R - velutirubata (aus 30/26: Lamarckiana vetaurea, Mutante von Shull, × biennis München). 31/35.

1426. M P sp - flavirubata (aus 31/35) (1) selbst: 100 Samen nicht gekeimt; 3 große reich verzweigte M P - flavirubata, mit rotstreifigen Kelchen und spärlich getupften Stengeln. 32/118.

1427. M P sp - flavirubata (aus 32/118) selbst: über 100 Samen nicht gekeimt; 4 große M P sp - flavirubata, keine lutescens. 33/115.

1428. M P sp - flavirubata (aus 33/115) selbst: 64 M P sp - flavirubata groß, reich verzweigt, breitblättrig, teilweise etwas gelbgrün; 8 M M p sp - lutescens, schwach, kurz- und schmalblättrig, recht gelb, an den Nerven besser grün. 34/87.

1429. P - biennis × M P sp - flavirubata (aus 31/35) (1): 16 P - albicans · P - rubens; keine M - flava. 32/121.

1430. Lamarckiana vetaurea (Mutante von Shull) × dieselbe: 32 P P - velutirubata altgold = vet-velans · vet P - rubens; wieder keine M - flava. 32/122.

1431. P P - Lamarckiana nanella × dieselbe: 42 P P - velutirubata nanella = n P - velans · n P - rubens; 1 P P - velutirubata hoch, crossover, n P - velans · N P - rubens; keine M - flava. 32/123.

1432. P-albiflava (aus 31/134; ist P-albicans·flavens) × dieselbe: 24 P-albicans·P-rubens, dunkelgrün, hoch; 8 p-flavens·P-rubens, erst gelbgrün, später schön grün; keine M-flava. 32/119.

1433. r-albivelutina großblütig (aus 30/130) × dieselbe: 9 m-albicans·m P r-rubens, sehr kräftig; 5 velutirubata nanella = n P-velans·n P-rubens; 1 velutirubata hoch, crossover, wohl n P-velans·N P-rubens (vgl. Nr. 1431); keine M-flava. 32/120.

Oe. R P-flavirubata = P-flavens·R-rubens.

Herkunft: P-flaviflexa (aus 29/167: flavivelutina × atrovirens) × biennis München gibt neben verschiedenen anderen Formen auch P-flavens·rubens. 30/178.

1434. R P-flavirubata (aus 30/178) selbst: 17 kräftige P-flavirubata, 5 R Sp, 10 R sp, 1 r Sp, 1 r sp; 18 P-lutescens, blaßgrün, mit sehr defekten Blättern, kaum blühend, sehr fein getupft. 31/196.

1435. R P Sp-flavirubata (aus 31/196) selbst: 52 P-flavirubata, meist Sp, wenige sp, mehr R als r; keine lutescens. 32/281.

Oe. r-laetiflava = r-gaudens·flavens.

Herkunft: aus Oe. Lamarckiana vetaurea × suaveolens.

1435a. flavilaeta (aus 30/29) selbst: 2 flavilaeta, 1 lutescens mit schmalen Kronblättern, sehr langen spitzen Knospen; Blüten hochgelb, nicht altgold. 31/32.

1435b. lutescens (aus 31/32) (1) selbst: 28 lutescens, etwas gelbgrün, ausgeprägter lutescens-Typus. 32/112.

Oe. r P-flavilaeta = flavens·P-gaudens.

Herkunft: aus Oe. suaveolens × P P-Lamarck. nanella.

1436. r P-flavilaeta (aus 31/23) selbst: 22 P-flavilaeta breitblättrig, erst gelbgrün, dann schön grün, grob getupft; etwa 20 lutescens, schwächer, gelbgrün, teilweise früh sterbend, blühend nur 8, schmalblättrig, gelbgrün, p p. 32/110.

Oe. M M-lutescens mit muricata-Plastiden aus R M-flavirubata.

(Über deren Herkunft vgl. oben S. 217).

1437. M M Sp sp-lutescens (aus 25/45; vgl. R. 1927. S. 77, Nr. 630) selbst: 10 lutescens, 9 Sp, 1 sp. 26/246.

1438. dieselbe × Hookeri: 22 M-flavihookeri, stark, rotstenglig, alle spitzkelchig, aber Kronbl. 31:32 und 37:39 mm, vielleicht die Sp Sp mit größeren Blüten als die sp Sp. 26/247.

1438a. M M sp sp-lutescens aus M R sp-flavirubata F_2 selbst; vgl. 1925, S. 27, Nr. 50. D_1 und D_2 vgl. 1927, S. 76, Nr. 609 und 610.

1439. D_3 (aus Nr. 610, 25/77, selbst): viele Samen nicht gekeimt; 23 grüne sp-lutescens. 26/248. Von dieser Familie wurde die Pollengröße gemessen (Hoeppener u. R. 1929, S. 69 f.).

1440. D_4 (aus 26/248): 40 Samen nicht gekeimt; 19 grüne lutescens. 27/162. — Nochmals gesät: 60 Samen nicht gekeimt; 36 schwache lutescens, blühen spät. 28/230 a. — Abb. 1.

1441. D_5 (aus 27/162): 160 Samen nicht gekeimt; 1 schwache lutescens aufgezogen. Der Stamm wurde nicht weitergeführt.

1442. sp-lutescens (in F_3 von flavirubata, 23/125; vgl. 1925, Nr. 50) 4 × biennis München: 45 flavirubata, teilweise gelbscheckig, 23 typisch, 22 Zwerge. Der eine flavens-Komplex der Pflanze Nr. 4 muß also aus rubens das nanella-Gen n übernommen haben.

Oe. P m sp - lutescens = sp - flavens · P sp - flavens.

Herkunft: r - velutiflava (aus 30/123: R - rubivelutina × sp m - lutescens) selbst gibt neben verschiedenen velutiflava-Typen auch sp - lutescens, und zwar mehr P P und P p als p p, die P P mit löffelförmigen ersten und sehr stumpfen späteren Blättern. 31/121.

1443. P p sp - lutescens (aus 31/121) selbst: 70 Samen nicht gekeimt; 3 stumpfblättrige sp - lutescens, 1 P p buschig, 2 P P mit sehr kurzen breiten Blättern, schwächer. 32/87.

1444. P p sp - lutescens (aus 32/87) (1) selbst: 70 Samen nicht gekeimt; 68 P sp - lutescens, etwas gelblich; fraglich, ob P P dabei. 33/100.

1445. P sp - lutescens (aus 33/100) selbst: 35 P sp - lutescens, ziemlich schwach, stumpfblättrig, meist ± gelbgrün. 34/92.

1446. P P sp - lutescens (aus 31/121) selbst: gegen 100 Samen nicht gekeimt; 1 P P - lutescens schwach, rundblättrig. 32/88.

Oe. lutescens aus rigiflava, Sprig - flavens · Sp-flavens.

1446a. Herkunft: P r M - rigiflava × suaveolens gibt unter anderem p M m - rigiflava. 23/20. Vgl. 1925, S. 63, Nr. 248.

1447. p M m - rigiflava (aus 23/20) selbst: 24 rigiflava; 7 lutescens viel schwächer. 24/50. — Nochmals gesät: 20 rigiflava; 10 lutescens viel schwächer. 25/114.

1448. p M - rigiflava (aus 25/114) × suaveolens : 4 p M - rigiflava, 8 M m - lutescens. 26/274.

1449. M m - lutescens (aus 26/274) selbst: 22 M - lutescens, mit langen Blättern. 27/163.

1450. P m - rigiflava (aus 32/108: rigiflexa × suaveolens) selbst: 10 rigiflava, 1 P und 9 p p; 17 lutescens, niedrig, schwach, buschig, 9 p p und 8 P. 33/113. — Diak. der P - lutescens: 4, 5 × 2.

1451. P Str - lutescens (aus 24/53: aus M P Str - rigiflava selbst; vgl. R. 1925, S. 131, Nr. 606) selbst: 20 P - lutescens, vielleicht 1 p dabei; P P fehlen, müßten Zwerge sein, weil das P Str von Lamarckiana nanella stammt. 25/54.

1452. dieselbe × muricata: 66 P - flavicurva, davon 64 P breitblättrig, 2 p schwächer. 25/53.

2. Homozygotische Oe. argillicola = dilatans · dilatans.

Oe. argillicola Mackenzie, eine sehr auffällige, ganz kahle Art mit sehr schmalen Blättern, plagiotropen nickenden Stengeln, großen Blüten ist, wenigstens in der zuerst analysierten Sippe von White Sulphur Springs in West-Virginia, nach Mickan (1935) isogam-heterozygotisch und bildet in der Diakinese 5 Paare und einen 4er-Ring[1]), der die

1) Herr Prof. Stomps hat nach brieflicher Mitteilung an dem in Amsterdam kultivierten Material, das aus Samen von Jena stammt, dieselbe Konfiguration gefunden.

Letalfaktoren enthalten muß. Die beiden Komplexe, die ziemlich ähnliche phänotypische Wirkungen hervorbringen, sind *dilatans* und *angustans* genannt worden (Renner 1933, S. 248), weil sie vor allem verschieden breite Blätter vererben.

Die Verbindung *dilatans · rubens* ist schon mit den Plastiden der *Oe. argillicola* recht gelbgrün, mit denen der *Oe. biennis* ganz blaß und nicht lebensfähig. Aus der Kreuzung *argillicola* × *biennis* ist sie also leicht zu gewinnen, in der reziproken Kreuzung wurde ein einziges weiß-grün-gescheckte Individuum durch *argillicola*-Plastiden so weit ausgeheilt, daß es am Leben blieb (Mickan S. 2). Beide Formen blühten erst zweijährig, und ich selber habe sie weiter verfolgt, nachdem mein Schüler Mickan seine Arbeit abgeschlossen hatte. Die Abb. 2 zeigt den Habitus einer F_2-Pflanze, die der F_1 recht ähnlich war.

Abb. 2. Oe. (biennis × argillicola) rubidilatata F_2, Blüten mittelgroß, Kelchzipfelspitzen gerade. 31. Aug. 1935. Aus Familie 1472.

Die Nachkommenschaften selbstbestäubter *rubidilatata* und *dilatirubata* bestehen immer (F_2: Nr. 1466, 1467; 1472; F_3: Nr. 1468; 1473, 1474) aus *rubidilatata* (Abb. 2) und kahlen, schmalblättrigen, schiefstengligen, ganz *argillicola*-ähnlichen Pflanzen (Abb. 3 und 4). Beide Typen kommen in verschiedenen Blütengrößen vor, aber Übergänge im Habitus fehlen ganz. Einmal wurden unter der *rubidilatata* (Nr. 1472) zwei verschiedene Knospenformen beobachtet, mit etwas geschweiften und mit geraden Kelchzipfelspitzen. Typische Stumpfkelche wurden nicht gefunden, auch nicht in der Kreuzung *dilatirubata* × *biennis* (Nr. 1469); unter den Sämlingen einer F_2 (Nr. 1466) fanden sich allerdings einige mit rundlichen Primärblättern, wie sie für sp sp-Formen charakteristisch sind,

aber diese waren zu schwach, um ausgepflanzt zu werden. Es scheint also möglich, daß sp-Homozygoten gebildet werden, aber gewöhnlich nicht zur vollen Entwicklung kommen.

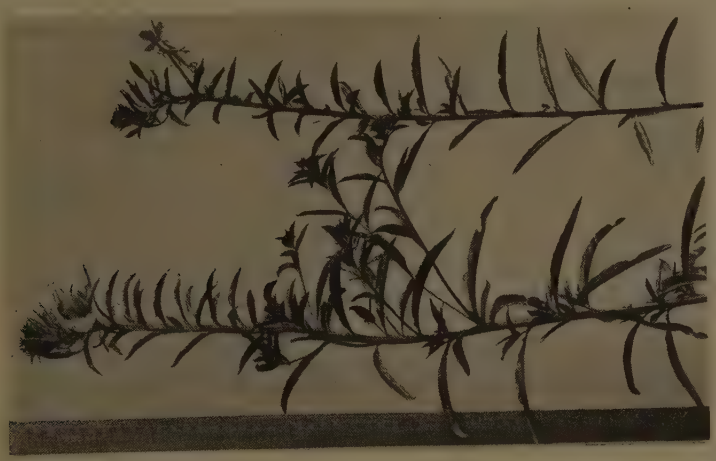


Abb. 4. Oe. amphidilatata groß- und kleinblütig in F_2 von Oe. (argillicola × biennis) dilatirubata. 31. Aug. 1935. Aus Familie 1466.

Abb. 3. Oe. amphidilatata großblütig in F_2 von Oe. (biennis × argillicola) rubidilatata. 31. Aug. 1935. Aus Familie 1472.

Die abgespaltenen *„argillicola“* sind, von der Blütengröße abgesehen, weiterhin konstant (Nr. 1475—1477), sie bilden in der Diakinese 7 Paare (geprüft an 2 Pflanzen von 35/114, Nr. 1466, einer Pflanze von 35/113, Nr. 1472), und die Kreuzungen mit *biennis* ♂, *suaveolens* ♂, *biennis* ♀, *Lamarckiana* ♀ (Nr. 1478—1481) zeigen, daß sie in den Embryo-

säcken wie im Pollen nur *dilatans* enthalten. Sie sind also *dilatans*-Homozygoten, *amphidilatata*, wenn auch zunächst in Einzelfaktoren wohl großenteils noch heterozygotisch. Ebenso erwies sich ein von Mickan übernommener Stamm unklarer Herkunft als homozygotisch *dilatans* (Nr. 1483—1491). Die beobachteten amphidilatata-Typen sind durchaus kräftig und voll fruchtbar, wie *Oe. argillicola*.

Die Verbindung *dilatans · rubens* bildet nach Mickan (S. 3) in der Diakinese einen 10er-Ring und 2 Paare. Eigene Untersuchung an einer *dilatirubata* F_1 (35/300) und einer *rubidilatata* F_2 (Nr. 1472, 35/113) bestätigten diesen Befund. Durch Übernahme von einem oder von zwei Chromosomen aus *rubens* wird *dilatans* also zu einer wenigstens annähernd homozygotischen, vielleicht zu vollhomozygotischer Existenz fähig.

Mickan hat den Komplexen der *Oe. argillicola* „mit Vorbehalt" folgende Formeln gegeben:

angustans	1·4	3·2	5·6	7·8	9·10	11·12	13·14,
dilatans	1·4	3·2	5·6	7·9	8·10	11·12	13·14.

Von *angustans · flavens*, die 7 Paare haben sollte, hat Mickan keine ganz sicheren Bilder gesehen; die Verbindungen von *angustans* mit *albicans*, *rubens*, *ʰHookeri*, *velans* zeigen nach Mickan dieselben Konfigurationen wie die Verbindungen dieser Komplexe mit *flavens*. Dem Komplex *dilatans* schreibt Mickan das Chromosom 7·9 zu, weil die *albidilatata* nach dem Behaarungsfaktor pil-Pil spaltet (dazu Nr. 1460, 1464) und ich das pil tragende Chromosom provisorisch als 7·9 bezeichnet hatte (1933, S. 239). Dieses Chromosom ist inzwischen von Catcheside als 8·9 identifiziert worden, und dann sollte *dilatans* als einziges gegenüber *angustans* transloziertes Chromosomenpaar 8·9 und 7·10 besitzen. Daß *dilatans* und *albicans* wirklich Pil — pil tauschen, habe ich durch zwei weitere Verbindungen, die Mickan nicht hergestellt hat, bestätigen können; *albidilatata* × *suaveolens* (Nr. 1462) gibt, ebenso wie *albiflexa* (und *albieflexa*) × *suaveolens* (R. 1933, S. 224 ff.), neben der normalen flaumhaarigen pil-*albicans* · Pil-*flavens* eine sehr feinhaarige Pil-*albicans* · Pil-*flavens*[1]), und *albidilatata* × pil-*albivelutina* (Nr. 1463) gibt nicht nur bräunliche pil-*albicans* · pil-*velans*, sondern auch grüne Pil-*albicans* · pil-*velans*. Daß außerdem der Nickfaktor Ce von *dilatans* auf *albicans* übergehen kann, ist ebenfalls in der Kreuzung *albidilatata* × *suaveolens* (Nr. 1462) besonders deutlich geworden, und die spärlichen Erfahrungen Mickans über die Spaltung in der F_2 der *velutidilatata* sind durch die Aufzucht einer etwas größeren Familie (Nr. 1465) ge-

1) 1933 S. 225, in der Erläuterung zu Fig. 14, steht versehentlich pil Pil^{fle} statt Pil^{fle} Pil^{fla}.

sichert; M p Ce wird gegen m P ce getauscht. Als sicher kann also gelten, daß *dilatans*, wie Mickan angibt, 1·4 mit Ce, 3·2 mit M, 9·8 (statt 7·9) mit Pil besitzt; daß es 5·6 mit Sp enthält, ist nicht unwahrscheinlich. Früh sterbende Sämlinge waren wohl wieder Ce-Homozygoten, die zwar in der *argillicola* selber, aber nicht als *albidilatata* und *velutidilatata* lebensfähig sind.

Von den beiden Chromosomenpaaren der *rubidilatata* wäre dann das eine 2 × 5·6; einen Letalfaktor könnte 5·6 von *dilatans* nicht enthalten, weil dasselbe Chromosom auch in *angustans* vorkommt. Dann bliebe, wenn die von Mickan abgeleiteten Formeln richtig wären, als Letalchromosom von *dilatans*, das durch ein *rubens*-Chromosom ohne Letalfaktor oder mit nicht identischem Letalfaktor ersetzt werden könnte, nur 7·10. Dieses Chromosom kommt aber in keiner der für *rubens* aufgestellten Formeln vor. Also enthalten die Formeln von Mickan irgend einen Fehler. Die Konfiguration von *angustans · flavens* ist ja zugestandermaßen unsicher, und wenn diese Verbindung in Wirklichkeit keine 7 Paare bildet, muß das ganze Bezifferungssystem fehlerhaft werden. Wir können also vorläufig nicht mehr sagen, als daß *dilatans* durch Aufnahme vermutlich eines Chromosoms aus *rubens* von seinem vermutlich einzigen Letalchromosom befreit wird.

Eine *Oe. argillicola* von Huntingdon in Pennsylvanien hat Cleland beschrieben und analysiert (1937, S. 507 ff.). Sie scheint, wie Beschreibung und Bilder (Taf. I bei S. 508) dartun, unserer Sippe in allen wesentlichen Habitusmerkmalen durchaus ähnlich wenn nicht gleich, zeigt aber in der Diakinese 7 Paare, ist also homozygotisch. Die Chromosomenenden stimmen weder mit denen von *dilatans* noch mit denen von *angustans* überein, wie aus der folgenden Tabelle hervorgeht.

Verbindung mit	gaudens	velans	rigens
^{h}argillicola	14	10, 2, 2	14
dilatans	10, 2, 2	6, 4, 2, 2	8, 4, 2
angustans	12, 2	4, 4, 2, 2, 2	

Die Chromosomenenden von ^{h}*argillicola* sind nach Cleland (S. 498)

$$\left.\begin{matrix} 1\cdot4 \begin{cases} 3\cdot5 \\ 3\cdot6 \end{cases} & \begin{matrix} 2\cdot6 \\ 5\cdot2 \end{matrix} \\ 3\cdot2 \begin{cases} 1\cdot5 \\ 1\cdot6 \end{cases} & \begin{matrix} 4\cdot6 \\ 5\cdot4 \end{matrix} \end{matrix}\right\} 7\cdot10 \quad 9\cdot8 \quad 11\cdot12 \quad 13\cdot14$$

Ein sicherer Unterschied gegenüber der heterozygotischen Sippe besteht also darin, daß die homozygotische 1·4 oder 3·2 besitzt, nicht beide; eine sichere Übereinstimmung liegt darin, daß ^{h}*argillicola* 9·8 besitzt wie *dilatans*. Über die genetischen Beziehungen zwischen der

Sippe von White Sulphur Springs und der von Huntingdon läßt sich vorläufig nichts Begründetes aussagen. Bemerkenswert ist immerhin, daß die Pflanze an dem von Bartlett besuchten Standort „in intimate association with *Oe. scitula* and *Oe. levigata*“ und in der Nachbarschaft zweier weiterer Arten von *Onagra* wächst (Bartlett 1914, S. 46); Bastardierung der (ursprünglich homozygotischen?) *Oe. argillicola* mit den Nachbarn scheint also wohl möglich.

Im Vorbeigehen ist noch ein Wort über die Behaarung der *argillicola*-Bastarde zu sagen. *Oe. argillicola* selber ist, im Gegensatz zu allen anderen studierten Arten, kahl, ihre Bastarde sind sämtlich stärker oder schwächer behaart. Auch *albicans* · *dilatans* hat, besonders an den Kelchen, ziemlich lange seidige Behaarung von der gewöhnlichen farblosen Art, in der F_2 treten Individuen mit der bräunlichen Behaarung der pil-Homozygoten auf. Der pil genannte, für *albicans* charakteristische rezessive Faktor bedingt also nur die Farbe der Haare, ebenso wie das dominante Allel Pil von *dilatans*. Für die Ausbildung der seidigen Behaarung als solcher ist ein dominantes Gen — oder sind mehrere solche Gene — in *albicans* verantwortlich, die Haarlosigkeit von *dilatans* und *angustans* verhält sich rezessiv.

Bemerkenswert ist auch, daß beide reziproken Kreuzungen zwischen *Oe. argillicola* und *Oe. Hookeri* blasse, sehr früh sterbende Keimlinge geben (Boedijn 1925, S. 235 f.; Mickan 1935, S. 2, 10). Von keinem anderen Artenpaar ist das bis jetzt bekannt geworden.

Belege.

1453. argillicola (aus Wildsamen, Jan. 1928 von Bartlett gesammelt): 34 Samen gekeimt, 40 nicht gekeimt; aufgezogen 24 Pfl., nur teilweise einjährig blühend, im September. 28/233. — Zweijährig blühend 8 Pfl., als 29/248.

1454. argillicola 2-jährig (aus 29/248) selbst: 69 Samen gekeimt, 31 nicht gek. Von Mickan erzogen. 30/1 a. — Zweijährig blühend 5 Pfl. als 31/4 b.

1455. argillicola 2-jährig (aus 31/4 b) selbst: 4 Pfl.; von Mickan noch mehr Pflanzen aufgezogen. 32/2.

1456. argillicola 1-jährig (aus 32/2) selbst: 35 Sämlinge, 12 Pfl. aufgezogen. 33/2. — Zweijährig blühen einige Pfl. als 33/223.

1457. argillicola 2-jährig (aus 33/223) selbst: 12 Pfl. aufgezogen. 34/2.
Dieser Stamm wurde versehentlich nicht weiterkultiviert. Aus den Kulturen von Mickan wurde eine als argillicola bezeichnete Familie übernommen, die nach der Blütengröße spaltete und sich als dilatans · dilatans erwies (Nr. 1483 bis 1491), also eine aus einem Bastard abgespaltene Homozygote darstellt. Zwei Generationen später (40/2) wurde die Diakinesekonfiguration geprüft; es sind 7 Paare. In Amsterdam hat Prof. Stomps den heterozygotischen Stamm noch in Kultur.

1458. argillicola (aus 31/4 b) × biennis München: angustirubata und dilatirubata, von Mickan 1933 erzogen. — Zweijährig blühen 20 dilatirubata, gelbgrün. 34/282.

1459. biennis München × argillicola: albiangustata, albidilatata und rubidilatata, von Mickan 1933 und 1934 erzogen. Zweijährig blühen noch: 1 rubidilatata, geheilter Scheck, gelbgrün, 34/276; und 2 albidilatata, groß, höher als argillicola, an p-albivelutina erinnernd, mit lang abstehend-behaarten Kelchen, 35/202.

albicans · dilatans.

1460. albidilatata F_1 1-jährig selbst: etwa 10 gelbe oder gelbgrüne Sämlinge eingegangen; 24 albidilatata, am 29. Juli kaum nickend, teilweise sehr großblütig, etwas mehr sattgrüne Pil als hellgrüne bräunlich behaarte pil. 34/197.

1461. albidilatata F_1 2-jährig (aus 35/302) selbst: 3 grüne, 5 blasse eingegangen. 36/51.

1462. dieselbe albidilatata 1 × suaveolens: 2 weiße und 7 grüne Sämlinge. Im Beet 1 dilatiflava mit etwas gelblichem Laub, rötlichen Nerven, und 6 albiflava, davon 3 nickend feinhaarig Ce Pil, 1 nickend flaumhaarig Ce pil, 1 aufrecht feinhaarig ce Pil, 1 aufrecht flaumhaarig ce pil. 36/52.

1463. dieselbe albidilatata 1 × pil-albivelutina: 4 dilativelutina, Nerven rötlich, Stengel rot, 3 Pil, 1 pil; 45 albivelutina, Nerven weiß, Stengel grün, 24 Pil grünlaubig, 21 pil sehr ausgeprägt bräunlich. 36/53.

1464. biennis München × dieselbe albidilatata 1: 6 weiße eingegangen, rubens · dilatans; 48 albidilatata, Pil und pil, nickende und aufrechte, nicht ausgezählt. 36/54.

velans · dilatans.

1465. (r-Lamarckiana × argillicola) velutidilatata F_1 selbst: 11 gelbe Sämlinge eingegangen; 21 grüne, teilweise mit gelben Kotyledonen; blühend: 15 M Ce, nickend, rotstenglig, mit spreizenden rot überlaufenen Kelchzipfelspitzen; 15 m ce aufrecht, grünstenglig, mit zusammengeneigten roten Kelchzipfelspitzen; 1 intermediär, mit roten, aber spreizenden Kelchzipfelspitzen, vielleicht crossover. 34/198.

dilatans · rubens aus argillicola × biennis München.

1466. dilatirubata 2-jährig (aus 34/282) F_1 1 selbst: 8 kleine, teilweise stumpfblättrige Sämlinge schwach, nicht ausgepflanzt; 23 dilatirubata, mit fast geraden, grünen Stengeln, teilweise gelbgrünem Laub, fast kahlen oder sehr spärlich behaarten Kelchen, geraden Kelchzipfelspitzen; 21 amphidilatata, sehr schmalblättrig, nur Seitensprosse schießend, plagiotrop, nickend (Abb. 4); beide Formen mit verschieden großen Blüten. 35/114. — Diak. der amphidilatata: 7 Paare.

1467. dilatirubata 2-jährig (aus 35/300) F_1 (1) selbst: 7 dilatirubata, 4 amphidilatata. 36/55.

1468. dilatirubata F_2 (aus 35/114) selbst: 65 Pfl., mehr dilatirubata als amphidilatata. 36/61.

1469. dilatirubata 2-jährig (aus 34/282) 2 × biennis München: 32 Rosetten, meist mit gelbspitzigen Blättern, 2 davon weißscheckig, nur wenige mit Grundseitensprossen im ersten Jahr treibend. 35/115. — Zweijährig blühend 24 dilatirubata, gelblichgrün, aber groß und reich blühend, in zwei Blütengrößen (Kronbl. 20,5:24 und 18:20 mm), alle mit spitzen Blättern und Knospen, leicht geschweiften Kelchzipfelspitzen. 36/322.

1470. biennis München × dilatirubata (aus 35/300) (1): 13 r-albidilatata, Kelche teils seidig behaart wie bei der F_1, teils sehr feinhaarig; 31 R-biennis = albicans · rubens, teilweise fein behaart wie normal, teilweise flaumig behaart; 1 weißer Sämling, rubens · dilatans, gestorben. 36/58.

1471. dilatirubata 2-jährig (aus 35/300) (1) × amphidilatata (aus 35/303, unter Nr. 1482) : 30 rubidilatata; 23 amphidilatata. 36/56.

rubens · dilatans aus biennis München × argillicola.

1472. rubidilatata 2-jährig (aus 34/276) F_1 (1) selbst: 17 rubidilatata, mit spärlich abstehend-behaarten Kelchen, teils mit dünnen geschweiften Kelchzipfelspitzen, 21:23 mm großen Kronbl., teils mit kürzeren genäherten geraden Kelchzipfelspitzen, 40:40 oder 30:29 mm großen Kronbl.; 17 amphidilatata, mit ganz kahlen Kelchen, 30:31 mm großen Kronbl. 35/113. — Zweijährig blühen noch einmal 12 rubata und 2 amphidilatata als 36/304. — Diak. der rubidilatata: 10, 2 × 2; der amphidilatata: 7 Paare. — Abb. 2, 3.

1473. rubidilatata F_2 (aus 35/113) mit geschweiften Kelchzipfelspitzen selbst: 64 Pfl., teils rubidilatata teils amphidilatata. 36/59.

1474. rubidilatata F_2 (aus 35/113) mit geraden Kelchzipfelspitzen selbst: 55 Pfl., mehr rubidilatata als amphidilatata. 36/60.

dilatans · dilatans = argillicola homozygotisch.

1475. amphidilatata (aus 35/114, Nr. 1466) größerblütig selbst: 14 amphidilatata sehr gleichförmig, spät aber reich blühend. 36/62.

1476. amphidilatata (aus 35/114) kleinblütig selbst: 38 amphidilatata, die Mehrzahl dunkelgrün, etwa 10 gelblichgrün. 36/63.

1477. amphidilatata (aus 35/113, rubidilatata, Nr. 1472) ziemlich großblütig 1 selbst: 32 amphidilatata, Kronbl. 31: 32, 34: 35 mm. 36/64.

1478. dieselbe 1 × biennis München: 9 gelblichgrüne Rosetten, eine davon hell gescheckt. 36/65.

1479. dieselbe 1 × suaveolens: 13 gelbgrüne Rosetten. 36/66.

1480. biennis München × dieselbe amphidilatata 1:5 weiße Sämlinge, rubens · dilatans, davon einer grünscheckig, gestorben; 34 albidilatata, eine Zeit lang zwei Formen mit verschieden starker Rotfärbung der Nerven und der Stengel zu unterscheiden, zur Zeit der Hochblüte nicht mehr. 36/67.

1481. r-Lamarckiana × dieselbe amphidilatata 1:55 velans · dilatans; 30 blasse, teilweise grünscheckige gestorben, wohl laeta. 36/68.

1482. amphidilatata 2-jährig (aus den Kulturen von Mickan, unklarer Abstammung) selbst: 12 amphidilatata, Kronbl. 28: 28, 35: 34 mm. Blühen zweijährig als 35/303.

1483. amphidilatata (aus 35/303) 2 selbst: 12 amphidilatata. 36/2. — Nochmals gesät: 20 amphidilatata, blühen großenteils 1-jährig. 37/2.

1484. amphidilatata (aus 37/2) selbst: 12 amphidilatata. 40/2.

1485. amphidilatata 3 (aus 35/303) × biennis München: 57 dilatirubata, gelbgrün, keine angustata. 36/69.

1486. dieselbe amphidilatata 4 × suaveolens: 37 dilatiflava etwas blaß grün, bebesonders an den Mittelnerven; keine angustata. 36/96.

1487. dieselbe amphidilatata 4 × r-Lamarckiana: 13 schwache blaßgrüne Rosetten. 36/70.

1488. biennis München × dieselbe amphidilatata 3:12 albidilatata, keine angustata: 2 weiße gestorben, rubidilatata. 36/71.

1489. r-muricatata × dieselbe amphidilatata: 18 rigi-dilatata, davon 5 Weißschecken, 3 sektorial gescheckt, 1 weiß über grün, 1 grün über weiß. 36/72.

1490. rubicurva (aus rubiflexa × muricata, also mit atrovirens-, nicht mit muricata-Plastiden) × dieselbe amphidilatata: 39 rubidilatata, dunkelgrün, üppig, viel kräftiger als die primäre, 7 davon leicht gelbscheckig. 36/73.

1491. sp-rubiflava (aus 35/66, mit muricata-Plastiden) × dieselbe amphidilatata, 8 flavidilata, freudig grün, reich verzweigt, viel kräftiger als die primäre. 36/50.

III. Crossover-Homozygoten.

1. Oe. lutescens aus Oe. suaveolens, albiflava, velutiflava, flexiflava.

Daß die aus *Oe. suaveolens* bei Selbstbestäubung hervorgehende „Mutante" *lutescens* von DE VRIES (1918 b, S. 9 f.; Op. Coll. VII, S. 250) annähernd homozygotische *flavens·flavens* sein dürfte, habe ich in einem Referat über die Mitteilung von DE VRIES (R. 1921, S. 173) ausgesprochen, und OEHLKERS hat diese Deutung dann auf Grund eigener Versuche bestätigt (1923, S. 226 ff.). Die Diakinesekonfiguration bei einer solchen *lutescens* hat EMERSON (1931 b, S. 386) zu 7 Paaren bestimmt. Die Abstoßung des im 5·6-Chromosom liegenden Letalfaktors von *flavens* muß hier durch crossing-over geschehen (EMERSON u. STURTEVANT, S. 1931, S. 416), weil *albicans* mit *flavens* nur das Chromosom 1·4 gemein hat. Hier trifft also die Deutung zu, die DARLINGTON allgemein für die Entstehung der *lutescens* gibt. Die Häufigkeit der *lutescens* betrug bei DE VRIES 0,7 bis 5,1 %, im ganzen 1,8 %; ich fand 2 lutescens auf 109 Keimpflanzen (1917, S. 162; später habe ich *Oe. suaveolens* Jahr für Jahr nur in kleiner Zahl aufgezogen und *lutescens* selten wieder beobachtet), also rund 2%, OEHLKERS dagegen 6% (S. 228).

OEHLKERS hielt es für wahrscheinlich, daß in seinen Versuchen der abgeänderte *flavens*-Komplex, den wir $+^{let}$-*flavens* nennen wollen, nur in den Embryosäcken aktiv wurde, daß also die *lutescens* immer heterozygotisch $+^{let}$-*flavens*·let-*flavens* blieb. Völlig sicher ist die Entscheidung nach seinen Daten wohl nicht zu treffen, und die Kreuzung *Oe. suaveolens* × *lutescens* gibt, wie OEHLKERS selber hervorhebt, mehr *lutescens*, als nach der gemachten Annahme zu erwarten wäre (S. 232). Eine meiner *lutescens*-Formen verhält sich bestimmt anders. Sie stammt aus einer *albiflava*, die das abgeänderte *flavens* aus dem Pollen der *Oe. suaveolens* erhielt, in der Kreuzung *albivelutina* × *suaveolens* (Nr. 1503). Die betreffende *albiflava* fiel, wie einige Schwesterpflanzen und wie auch einige *velutiflava*-Individuen, durch schmale Blätter auf. Der *flavens*-Komplex hat also mindestens hier außer dem Faktor $+^{let}$ auch ein Blattbreite-Gen aus *albicans* übernommen, dessen Wirkung aber in der Homozygote *flavens·flavens* viel weniger zum Ausdruck kommt als in den Heterozygoten *albicans·flavens* und *velans·flavens*. Daß die Kreuzung *lutescens* × *biennis* zwei deutlich verschiedene *flavi-*

rubata Formen lieferte (Nr. 1510), ist überraschend. Vielleicht hängt die Spaltung mit der nach Blütengrößefaktoren zusammen; die für die Kreuzung mit *Oe. suaveolens* verwendete *albivelutina* hatte ein *albicans* mit dem Co-Gen von *velans*. Im übrigen muß diese *lutescens* den Komplex $+^{let}$-*flavens* in homozygotischem Zustand enthalten haben. Dasselbe gilt für die aus der schmalblättrigen *velutiflava* hervorgegangene P-*lutescens* (Nr. 1517), die, vermutlich infolge des Besitzes von $1 \cdot 2 +$ 3P4 von *velans*, bedeutend kräftiger war als die p-*lutescens* und bei Selbstbestäubung außer PP-Zwergen (weil das P-Chromosom den *nanella*-Faktor trägt) schwache p-*lutescens* abspaltete (Nr. 1515). Die übrigen Verbindungen der beiden *lutescens*-Typen brachten die erwarteten Formen (Nr. 1511, 1512; 1516). Nur daß in der Kreuzung *suaveolens* × *lutescens* die Verbindung *albicans* · $+^{let}$-*flavens* als schmalblättrige *albiflava* fehlte (Nr. 1513), ist auffallend. — Die Diakinesekonfigurationen der fraglichen Formen sind leider nicht bestimmt worden, und so ist hier die Möglichkeit nicht auszuschließen, daß es sich bei der *Oe. suaveolens*, die den Ausgangspunkt bildet, um eine reziproke Translokation zwischen nicht homologen Chromosomen gehandelt hat.

Wenn die *lutescens* aus getupfter P-*albiflava* = P-*albicans* · *flavens* hervorgeht (Nr. 1493ff.), ist sie wegen der Tupfenlosigkeit von der heterozygoten Mutter viel stärker verschieden, als sich die *lutescens* von *suaveolens* unterscheidet; in fünf Generationen kamen hier 4 p-*lutescens* auf 301 P-*albiflava*, also war die Mutante zu 1,3% vertreten; daß alle 4 lutescens in einer und derselben Familie auftreten, könnte man allerdings am ehesten auf selektive Sterblichkeit der *lutescens*-Zygoten zurückführen, und dann wäre die Häufigkeit des crossing-over in Wirklichkeit höher als 1,3%. Entsteht die *lutescens* aus M-*albiflava* = *albicans* · M-*flavens* (Nr. 1501, 1502), so ist sie als MM sehr stark marginat und schmalblättrig, weil das aus *flectens* stammende M-Chromosom schmale Blätter vererbt, schmälere als das M aus *curvans*.

Daß *flavens* seinen Letalfaktor auf dem Weg des crossing-over auch an *velans* abstoßen kann, geht aus der Beobachtung von Oehlkers hervor, der eine *lutescens* (als lut. 17 bezeichnet) in der F_2 von *Oe.* (*Lamarckiana* × *suaveolens*) *velutiflava* fand (1923, S. 238). Das crossing-over spielt sich hier in dem 4er-Ring ab, der von *flavens* $5 \cdot 6$ und $7 \cdot 8$, von *velans* $5 \cdot 8$ und $7 \cdot 6$ enthält. Wenn *lutescens* in der Rückkreuzung *velutiflava* × *suaveolens* auftritt, läßt sich nicht ohne weiteres entscheiden, ob das $+^{let}$-*flavens* aus dem Pollen der *suaveolens* oder aus den Embryosäcken der *velutiflava* stammt. In einer solchen Kreuzung entstanden einmal 6 P-*lutescens* neben 56 *velutiflava* (Nr. 1517). Sie

waren alle schlank und verzweigt, ganz anders im Habitus als die P-*lutescens* aus *velans* · $+^{let}$-*flavens*. Allerdings ist auch die „*lutescens* 17" von Oehlkers wohl verzweigt, aber sie ist nicht streng vergleichbar, weil sie p, nicht P besitzt. Wahrscheinlicher ist es immerhin, daß die P-*lutescens* der Nr. 1517 normales *flavens* von *suaveolens* und abgeändertes *flavens* von *velutiflava* erhalten hatten. Bei Selbstbestäubung spaltete die Pp-*lutescens* einige PP- und schwache p-Individuen ab (Nr. 1518, 1519). Die PP-Form ist recht kräftig, hoch und schlank (Abb. 5), weiterhin konstant (Nr. 1520), und hat in der Diakinese 7 Paare, während die Pp-Form wie zu erwarten neben 5 Paaren noch einen 4er-Ring, nämlich $1 \cdot 2 + 2 \cdot 3 + 3 \cdot 4 + 4 \cdot 1$, bildet.

Abb. 5. Oe. P P-lutescens kleinblütig, vollhomozygotisch. 16. Aug. 1934. Aus Familie 1520.

Wie an anderer Stelle ausführlicher mitgeteilt werden soll, tritt *lutescens* auch in der Kreuzung *Oe. (atrovirens* × *suaveolens) flexiflava* × *suaveolens* auf, neben vielen tauben Samen, die *flavens* · *flavens* darstellen. Die Verbindung *flectens* · *flavens* bildet in der Diakinese einen Ring von 6 und einen Ring von 4 Gliedern und dazu 2 freie Paare. Das Chromosom $5 \cdot 6$ liegt in dem 6er-Ring (R. 1933, S. 244); *flavens* kann also nur durch crossing-over entstehen. Ob aber die $+^{let}$-*flavens*-Keimzellen, die der *lutescens* den Ursprung gaben, vom Vater *Oe. suaveolens* oder von der Mutter *flexiflava* stammten, ist nicht zu entscheiden. Weiter verfolgt sind diese *lutescens*-Formen nicht.

Wesentlich ist, daß das zygotisch letale Prinzip von *flavens* einem kleinen Chromosomenstück angehört, das einem Ende des $5 \cdot 6$-Chromosoms recht nahe liegt, so daß durch crossing over der Letalfaktor verhältnismäßig oft beseitigt wird. Bei keinem anderen Komplex kennen wir ein solches Verhalten, die Letalfaktoren sind sonst dem Austausch nirgends zugänglich gefunden worden. Die Störung der *flavens*-

Homozygoten tritt verhältnismäßig spät auf, erst wenn der Embryo kopfförmig und wohl einige hundert Zellen stark ist (R. 1916, 1917; besonders Hiorth 1926, S. 217), aber *velans* verhält sich in dieser Beziehung nicht viel anders.

Der Spitzkelchfaktor Sp läßt sich, wie oben (S. 213) mitgeteilt, von let trennen. Er liegt also, wenn wir mit einfachem crossing-over rechnen, entweder in dem anderen Schenkel des 5·6-Chromosoms oder, wenn im selben Schenkel, dem Ende noch näher als let.

Catcheside (1936, S. 15) hat aus seiner hypothetischen Deutung der trisomischen Mutanten *oblonga* und *albida* der *Oe. Lamarckiana* den Schluß gezogen, daß vielleicht nicht das Vorhandensein spezifischer Letalgene, sondern nur eine gewisse Unausgeglichenheit der Konstitution für die homozygotische Lebensunfähigkeit der meisten Komplexe verantwortlich zu machen sei, und Darlington (1937, S. 356) schließt sich ihm hierin an. Die Erfahrungen mit *flavens* von *Oe. suaveolens* machen es aber durchaus wahrscheinlich, daß wir wenigstens in diesem Fall bei der Vorstellung eines Letalfaktors bleiben dürfen. Über das Wesen dieses Letalfaktors läßt sich freilich noch gar nichts aussagen; es könnte ganz wohl in einem Chromosom-Stückverlust bestehen.

Daß der *velans*-Komplex der *Oe. Lamarckiana* seine letalen Elemente in dem Chromosom 5·8 oder in 6·7 oder in beiden trägt, und daß die übrigen Chromosomen von Letalen frei sind, ist sicher (R. 1933, S. 244).

2. Curtans-Homozygoten aus Oe. Cockerelli. (Ob hierher?)

Über schwächliche *curtans*-Homozygoten, die er aus *Oe. Cockerelli* erhalten hat, berichtet Oehlkers (1940, S. 277). *Curtans* ist der Eizellenkomplex der von de Vries und besonders von Oehlkers studierten Art. Ausnahmsweise kommt *curtans* auch im Pollen aktiv vor (Oehlkers 1933, S. 412), aber damit Homozygoten entstehen, muß es noch „gelingen die Letalfaktoren zu entfernen" (Oehlkers 1940). Auf welchem Weg das geschehen ist, wird der Autor wohl bald selber mitteilen.

Auf den ersten Blick scheint es nicht möglich, für einen Komplex, der nur in den Embryosäcken und niemals im Pollen aktiv angetroffen wird, zu entscheiden, ob er zygotische Letalfaktoren enthält oder nicht. Die Frage muß aber, wenn sie logisch gerechtfertigt sein soll, anders formuliert werden: ob ein solcher Komplex sporophytische Letalfaktoren enthält oder nicht. Wir wissen, daß von den homozygotischen Wildarten, wie *Oe. Hookeri* und *franciscana*, und auch von der homozygotischen

Oe. Lamarckiana mut. *blandina* haploide, durch Parthenogenesis oder durch Gynogenesis (nach Bestäubung mit dem Pollen einer entfernt verwandten Art) entstandene Individuen lebensfähig sind (z. B. Stomps 1930, 1931). Die in beiden Geschlechtern aktiven, mit zygotischen Letalfaktoren ausgestatteten Komplexe wie *gaudens* und *velans* von *Oe. Lamarckiana* sind dagegen nie als haploide Sporophyten angetroffen worden — eingehende Versuche in Form von Kreuzungen mit entfernt verwandten Arten und fremden Gattungen hat Davis (1931) angestellt[1]) —, und ebenso verhalten sich die Eizellenkomplexe *albicans* von *Oe. biennis* und *rigens* von *Oe. muricata* (Stomps 1931, S. 265). Die „zygotischen" Letalfaktoren sind also Defekte des Genotypus, die ganz allgemein die Entwicklung des Sporophyten hemmen, wenn normale, den Defekt ausgleichende Allele fehlen. Parthenogenetische oder gynogenetische Entwicklung einer *albicans*- oder *velans*-Eizelle mag dann und wann zunächst in Gang kommen, sie kann aber so wenig bis zur Bildung eines keimfähigen Embryo geführt werden wie die einer *velans*-Homozygote.

Bei den isogamen Formen wie *Oe. Lamarckiana* lassen die genotypischen Defekte, die sich als zygotisch letal auswirken, die Entwicklung der haploiden Generation in beiden Geschlechtern unberührt. Bei den heterogamen Arten sind auch die Systeme, welche die Entwicklung der Haplophase kontrollieren, defekt, und zwar im Eizellenkomplex in dem Sinn, daß dieser nicht imstande ist, funktionsfähige Pollenkörner zu bilden, im Pollenkomplex umgekehrt in dem Sinn, daß dieser selten in Embryosäcken aktiv wird. Die Ausbildung der Mikrosporen wird durch ungünstige Außenbedingungen bei den Samenpflanzen allgemein leichter gestört als die der Makrosporen, wohl weil die Ernährung der sich im Sporangium isolierenden Mikrosporen schwieriger ist als die der Embryosäcke, die im Gewebeverband bleiben. Die genotypischen Defekte der Pollenkomplexe dürfen also wohl nicht so schwer werden wie die der Eizellenkomplexe. So ist es vielleicht zu verstehen, daß zwar die Pollenkomplexe wohl überall gelegentlich als aktive Embryosäcke auftreten, wenn die Korrelationen gerade günstig sind (vgl. R. 1940 a), aber die Eizellenkomplexe nur ganz selten als aktive Pollenkörner angetroffen werden. *Curtans* von *Oe. Cockerelli* ist schon genannt,

1) Auf Grund der Mitteilung von Gates u. Goodwin (1930) über eine haploide muttergleiche Pflanze aus der Kreuzung der angeblich immer heterozygotischen *Oe. rubricalyx* mit *eriensis* ♂ hält Davis (S. 242) es für möglich, daß Haploide nicht auf die homozygotisch lebensfähigen Komplexe beschränkt seinen. Aber *rubricalyx* ist, wie später dargelegt werden soll, vermutlich imstande, Homozygoten zu erzeugen. Umgekehrt sind die von Stomps (1930) beschriebenen schwachen Pflanzen aus *Oe. argillicola* × *biennis* sicher nicht haploid (vgl. Mickan).

für *excellens* von *Oe. chicaginensis* können wir die Angaben von de Vries (1913, S. 310) nach eigener Erfahrung bestätigen (R. u. Cleland 1933, S. 276, 309[1]). Ob die Eizellenkomplexe abtrennbare „Pollenletalfaktoren" besitzen, wird sich wohl an Ausnahmsindividuen wie den erwähnten prüfen lassen; im Pollen aufgetretenes *curtans* und *excellens* müßten dann weiterhin pollenaktiv bleiben. Daß die Pollenkomplexe keine „Eizellenletalfaktoren" haben, halte ich für erwiesen (R. 1940 a).

Belege.

lutescens als crossover aus P-albiflava als Mutter.

1492. r-albivelutina kleinblütig × suaveolens: p-albiflava und P-velutiflava, wenige P-albiflava und p-velutiflava als crossovers. 29/110.

1493. P-albiflava (P-albicans·flavens; aus 29/110) selbst: 54 P-albiflava üppig, reichblütig, stark getupft, mit rotstreifigem Kelch; 4 p-lutescens hellgrün, später vergilbend, zart, viel schwächer als die P-albiflava, spät blühend, sicher nicht etwa p-albiflava. 30/135.

1494. P-albiflava (aus 30/135) selbst: 70 P-albiflava, keine lutescens. 31/134.

1495. P-albiflava (aus 31/134) selbst: 8 P-albiflava stark, keine lutescens. 32/170.

1496. P-albiflava (aus 32/170) selbst: 45 P-albiflava, gleichförmig, keine lutescens. 33/145.

1497. P-albiflava (aus 33/145) selbst: 24 P-albiflava, groß, gleichförmig, keine lutescens. 34/75.

1498. p-lutescens (aus 30/135) 1 selbst: von 200 Samen nur 3 gekeimt, die Keimlinge bleiben in der Testa stecken. 31/138.

1499. dieselbe × biennis München: von 200 Samen einer gekeimt, wie vorher. 31/139.

1500. dieselbe × suaveolens: 200 Samen nicht gekeimt. 31/140.

M M-lutescens als crossover aus M-albiflava als Mutter.

biennis × M P-velutiflava dependens gibt u. a. M-albiflava. Vgl. R. 1940, S. 302, Nr. 1303.

1501. diese M-albiflava selbst: 45 M-albiflava; 1 M M-lutescens; 5 schmalblättrige Abweicher. 33/64 b.

1502. M M-lutescens (aus 33/64 b) selbst: 40 Samen gekeimt, kommen meist schlecht aus der Testa; nur 9 können ausgepflanzt werden, ausgesprochen lutescens, stark marginat, mit langen stark welligen Blättern. 34/93.

lutescens aus suaveolens als Vater.

1503. r-albivelutina großblütig (aus Lamarck. nanella) × suaveolens: 18 p-albiflava, 37 P-velutiflava, wenige P-albiflava als crossovers; schmalblättrig 4 p-albiflava und 3 P-velutiflava; 3 albiflava buschig, mit dicklichen Blättern, vielleicht trisomisch. 29/108.

1504. albiflava schmalblättrig (aus 29/108) selbst: 4 albiflava schmalblättrig, wie die Mutter; 4 lutescens gelbgrün, mit langen spitzen Kelchzipfelspitzen, eine sehr großblütig (Krbl. 44 : 48 mm). 30/152.

---

1) Bei *Oe. Shulliana* ist *jugens* so oft im Pollen aktiv gefunden (Sturtevant 1931, S. 374; Eizellen *jugens* 66, *maculans* 4, Pollen *jugens* 7, *maculans* 39), daß die Art vielleicht eher als isogam zu betrachten ist.

1505. albiflava schmalblättrig (aus 30/152) selbst: nicht gekeimt. 31/352.
1506. dieselbe × biennis München: 32 flavirubata hellgrün, mit langen spitzen Blättern, recht kräftig, keine biennis. 31/354.
1507. dieselbe × suaveolens: 1 lutescens hellgrün, keine suaveolens; 100 Samen nicht gekeimt. 31/355.
1508. lutescens (aus 30/152) 1 großblütig selbst: 16 gelbgrüne lutescens, ohne Rosette schießend, ziemlich schwach, aber doch über 1 Meter hoch werdend, mit sehr langen spitzen Knospen. 31/340.
1509. lutescens (aus 30/152) 2 selbst: 37 gelbgrüne lutescens ähnlich wie vorher. 31/341.
1510. lutescens (aus 30/152) 1 × biennis München: 137 flavirubata, davon 100 schwach, gelbgrün, wie aus suaveolens × biennis, 37 groß, hellgrün, mit sehr langen Blättern. 31/342.
1511. dieselbe × suaveolens: 51 lutescens gelbgrün, ohne Rosette schießend, ziemlich schwach, aber doch meist etwa 1 Meter hoch werdend, also wie die Mutter. 31/343.
1512. lutescens (aus 30/152) 2 × r-albivelutina, kleinblütig: 134 flavivelutina, üppig, nicht als zweiförmig zu erkennen. 31/344.
1513. suaveolens × lutescens (aus 30/152) 1 großblütig: 26 kräftige suaveolens; 15 schwache lutescens; 10 Sämlinge eingegangen; die erwartete schmalblättrige albiflava fehlt; 180 Samen nicht gekeimt. 31/154.
1514. P-velutiflava schmalblättrig (aus 29/108; oben Nr. 1503) selbst: 1 wie die Mutter; 3 P-lutescens groß, reich verzweigt, recht breitblättrig; 1 P P-lutescens nanella, sehr klein, nur 10 cm hoch (zwergig, weil das P aus n-velans stammt). 30/154.
1515. P-lutescens (aus 30/154) selbst: 55 P-lutescens etwas gelbgrün, aber groß, üppig, langblättrig, reich verzweigt, Kronbl. 37:47, 37:49 mm, Knospen schlank, rotstreifig, Früchte groß, rotstreifig; 10 P P-lutescens, sehr kleine Zwerge; 25 p-lutescens, schwach, gelbgrün. 31/345. — Andere Frucht: 60 lutescens, 39 große P p, 13 P P-Zwerge, 8 p schwach. 31/346.
1516. dieselbe × suaveolens: 130 lutescens, meist große P-lutescens, weniger schwächere p. 31/347.

P-lutescens aus velutiflava × suaveolens.

1517. P-velutiflava (aus 30/127: r-albivelutina kleinblütig × suaveolens) × suaveolens: 56 velutiflava, 46 P, 10 p; 6 P-lutescens, nicht verzweigt, im Gegensatz zu den reich verzweigten velutinae, hoch und schlank, breitblättrig, grob getupft, Laub heller grün. 31/126.
1518. P-lutescens (aus 31/126) kleinblütig selbst: 42 lutescens, meist recht gelb; die meisten P p, breitblättrig, sehr grob getupft, mit rotstreifigem Kelch, langen dünnen Kelchzipfelspitzen; wenige P P, mit stumpfen oft defekten Blättern, stumpfen Kelchen; 3 p sehr schwach; 10 schwache eingegangen, wohl auch p gewesen. 32/92. Diak. der P p: 4, 5 × 2.
1519. P p-lutescens (aus 32/92) selbst: 59 lutescens, davon 51 P, groß, breitblättrig, 8 p viel schwächer; P p mit schlanken leicht rotstreifigen Knospen, P P mit plumperen breit rotstreifigen Knospen. 34/130.
1520. P P-lutescens (aus 32/92) kleinblütig selbst: 42 P P-lutescens, hoch und schlank. 34/131. — Diak.: 7 Paare. — Abbild. 5.

Wesentliche Ergebnisse.

„Primäre Homozygoten", die einen von vornherein letalenfreien Komplex repräsentieren, sind z. B. *Oe. ochracea* aus *Oe. grandiflora*, *Oe. lutescens* aus einer bei Berlin gefundenen Sippe von *Oe. suaveolens*, *Oe. setacea* und ähnliche Formen aus *Oe. pratincola*, zwei *Oe. franciscana*-Stämme aus der *Oe. franciscana*-Rasse B von Davis.

„Hybridogene Homozygoten", durch Umtausch des Letalchromosoms in Kreuzungen entstanden, sind *Oe. lutescens* (= *flavens* · *flavens*) aus *Oe. (suaveolens* × *biennis) flavirubata* und *Oe. amphidilatata* aus *Oe. (argillicola* von White Sulphur Springs × *biennis) dilatirubata*. Vollhomozygotische *lutescens*-Typen sind nie so kräftig wie Spontanformen. Die *amphidilatata*-Typen — von denen noch nicht sicher ist, ob vollhomozygotische darunter waren — sind sehr wüchsig und voll fruchtbar; damit verträgt sich die Tatsache gut, daß auch homozygotische Spontanrassen von *Oe. argillicola* vorkommen.

„Crossover-Homozygoten" mit einem *flavens*-Komplex, der seinen Letalfaktor durch crossing-over verloren hat, sind die *lutescens*-Typen aus selbstbestäubter *Oe. suaveolens*, *albiflava*, *velutiflava*. Der Spitzkelchfaktor Sp von *flavens* kann durch crossing-over von dem ihn tragenden Letalchromosom 5 · 6 abgetrennt werden und erweist sich als nicht letal. Die Gene Sp und let liegen vermutlich in verschiedenen Schenkeln von 5 · 6.

Die „Translokationshomozygoten" vom Typus der *Oe. Lamarckiana mut. deserens* werden später behandelt werden.

Die „zygotischen Letalfaktoren" der Oenotheren sind als sporophytische Letalfaktoren zu verstehen, weil die mit ihnen behafteten Komplexe nie als parthenogenetische Haploide gefunden werden.

Oe. „franciscana sulfurea" ist eine abgeänderte *albata* mit einem sehr aktiven *albicans*-Komplex.

Literaturverzeichnis.

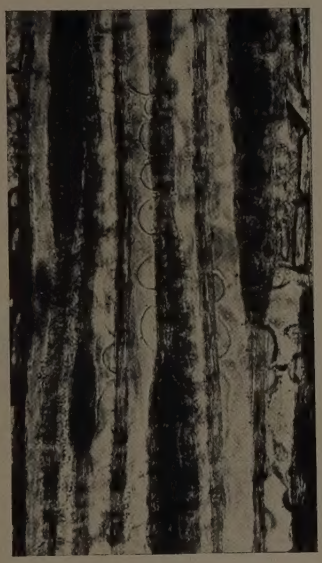
Bartlett, Twelve elementary species of Onagra. Cybele Columbiana **1,** 37—56 (1914). — Boedlin, Der Zusammenhang zwischen den Chromosomen und Mutationen bei Oenothera Lamarckiana. Rec. Trav. Bot. Néerland. **22,** 173—261 (1925). — Catcheside, Chromosome catenation in some F_1 Oenothera hybrids. Jour. of Genetics **27,** 45—69 (1933). — Ders., Origin, nature and breeding behaviour of Oenothera Lamarckiana trisomics. Jour. of Genetics **33,** 1—23 (1936). — Cleland, The reduction divisions in the pollen mother cells of Oenothera franciscana. Amer. Journ. Bot. **9,** 391—413 (1922). — Ders., Meiosis in pollen mother cells of Oenothera franciscana sulfurea. Bot. Gaz. **77,** 149—170 (1924). — Ders., The genetics of Oenothera in relation to chromosome behavior, with special reference to certain hybrids. Z. f. Vererbgsl. Suppl. I, 454—567 (1928). —

Ders., Further data bearing upon circle-formation in Oenothera, its cause and its genetical effect. Genetics **17,** 572—602 (1932). — Ders., Cyto-taxonomic studies on certain Oenotheras from California. Proc. Amer. Philos. Soc. Philadelphia **75,** 339—429 (1935). — Ders., Species relationships in Onagra. Proc. Amer. Philos. Soc. **77,** 477—542 (1937). — Ders., Analysis of wild American races of Oenothera (Onagra). Genetics **25,** 636—644 (1940). — Ders. and Blakeslee. Segmental interchange, the basis of chromosome attachments in Oenothera. Cytologia **2,** 175—233 (1931). — Ders. and Oehlkers, New evidence bearing upon the problem of the cytological basis for the genetical peculiarities in the Oenotheras. Americ. Naturalist **63,** 497—510 (1929). — Dieselben, Erblichkeit und Zytologie verschiedener Oenotheren und ihrer Kreuzungen. Jahrb. f. w. Bot. **73,** 1—124 (1930). — Cobb Blanchard, Heterogametic and homogametic hybrids between two mutations of Oenothera pratincola. Pap. Michigan Ac. of Sci. **6,** 133—180 (1926). — Dies., The genetical constitutions of Oenothera pratincola and its revolute-leaved mutations. Jour. Washington Acad. of Sci. **19,** 115—125 (1929). — Darlington, The cytological theory of inheritance in Oenothera. Jour. of Genetics **24,** 405—474 (1931). — Ders., Recent advances in cytology. London 1932. — Ders., Recent advances in Cytology. Sec. Ed. London 1937. — Davis, Hybrids of Oenothera biennis and O. franciscana in the first and second generations. Genetics **1,** 197—251 (1916). — Ders., Some inter- and back- crosses of F_1 Oenothera hybrids. Genetics **2,** 155—185 (1917). — Ders., Some attempts to obtain haploids from Oenothera Lamarckiana. Americ. Naturalist **45,** 233—242 (1931). — Emerson, Chromosome configuration in a dwarf segregate from Oe. „franciscana sulfurea". Pap. Michigan Ac. Sci. **9,** 117—120 (1928a). — Ders., Multiple-factor inheritance in crosses between Oenothera grandiflora and Oenothera franciscana. Pap. Michig. Acad. Sci. **9,** 121—138 (1928b). — Ders., The inheritance of certain characters in Oenothera hybrids of different chromosome configurations. Genetics **16,** 325—348 (1931a). — Ders., Genetic and cytological studies on Oenothera. II. Certain crosses involving Oe. rubricalyx and Oe. „franciscana sulfurea". Z. f. Vererbgsl. **49,** 381—394 (1931b). — Ders., A genetic and cytological analysis of Oenothera pratincola and one of its revolute-leaved mutations. Jour. of Genet. **32,** 315—342 (1936). — Ders. and Sturtevant, Genetic and cytological studies on Oenothera. III. The translocation interpretation. Z. f. Vererbgsl. **59,** 395—419 (1931). — Dieselben, The linkage relations of certain genes in Oenothera. Genetics **17,** 393—412 (1932). — Gates and Goodwin, A new haploid Oenothera, with some considerations on haploidy in plants and animals. Jour. of Genet. **23,** 123—156 (1930). — Gerhard, Genetische Untersuchungen an Oenothera grandiflora Ait. Jenaische Zsch. f. Naturw. **64,** 283—338 (1929). — Hiorth, Zur Kenntnis der Homozygoten-Eliminierung und der Pollenschlauch-Konkurrenz bei Oenothera. Z. f. Vererbgsl. **43,** 171—237 (1926). — Hoeppener u. Renner, Genetische u. zytologische Oenotherenstudien. II. Botan. Abhandl. herausgeg. v. K. Goebel, Heft 15 (1929). — Illick, A cytological study of meiosis in the pollen mother cells of some Oenotheras. Genetics **14,** 591—635 (1929). — Japha, Die Meiosis von Oenothera. II. Zsch. f. Bot. **34,** 321—373 (1939). — Kulkarni, Meiosis in Oenothera franciscana. Pap. Michigan Ac. Sci. **9,** 223—225 (1928). — Ders., Meiosis in the sporocytes of two mutations of Oe. pratincola and their hybrids. Amer. Jour. Bot. **16,** 606—620 (1929). — Lehmann, Die Theorien der Oenotheraforschung. Jena 1922. — Mickan, Zur Kenntnis der Oenothera argillicola. Flora **130,** 1—20 (1935). — Oehlkers, Vererbungsversuche an

Oenotheren. II. Z. f. Vererbgsl. **31,** 201—260 (1923). — Ders., Genetisch-physiologische Untersuchungen zum Vitalitätsproblem. Z. f. Bot. **35,** 271—297 (1940). — Renner, Referat über de Vries, Biolog. Zentralbl. **37** (1917) und Genetics **3** (1918), Z. f. Vererbgsl. **24,** 172—175 (1921). — Ders., Untersuchungen über die faktorielle Konstitution einiger komplexheterozygotischer Önotheren. Bibliotheca Genetica. Heft 9. Berlin 1925. — Ders., Über eine aus Oenothera suaveolens durch Bastardierung gewonnene homozygotische lutescens-Form. Hereditas **9,** 69—80 (1927). — Ders., Zur Kenntnis der Letalfaktoren und des Koppelungswechsels der Oenotheren. Flora **127,** 215—250 (1933). — Ders., Alte und neue Oenotheren in Norddeutschland. Feddes Repertorium, Beiheft C (Bornmüller-Festschrift), 94—105 (1938). — Ders., Kurze Mitteilungen über Oenothera. IV. Über die Beziehungen zwischen Heterogamie und Embryosackentwicklung und über diplarrhene Verbindungen. Flora **134,** 145—158 (1940a). — Ders., Zur Kenntnis der 15-chromosomigen Mutanten von Oe. Lamarckiana. Flora **134,** 257—310 (1940b). — Ders. und Cleland, Zur Genetik und Cytologie der Oenothera chicaginensis und ihrer Abkömmlinge. Z. f. Vererbgsl. **66,** 275—318 (1933). — Shull, Further evidence of linkage with crossing over in Oenothera. Genetics **8,** 154 to 167 (1923). — Stomps, Ueber parthenogenetische Oenotheren. Ber. D. Bot. Ges. **48,** 119—126 (1930). — Ders., Weiteres über Parthenogenesis bei Oenothera. Ebenda **49,** 258—266 (1931). — Sturtevant, Genetic and cytological studies on Oenothera. I. Z. f. Vererbgsl. **59,** 365—380 (1931). — de Vries, Gruppenweise Artbildung. Berlin 1913. — Ders., Mass mutations and twin hybrids of Oenothera grandiflora Ait. Bot. Gaz. **65,** 377—422 (1918a). — Ders., Mutations of Oenothera suaveolens Desf. Genetics **3,** 1—26 (1918b). — Ders., Twin hybrids of Oenothera Hookeri T. and G. Genetics **3,** 397—421 (1918c). — Ders., Kreuzungen von Oenothera Lamarckiana mut. velutina. Z. f. Vererbgsl. **19,** 1—38 (1918d). — Ders., Opera e periodicis collata. Vol. 7, Utrecht 1927.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft, früher Notgemeinschaft der Deutschen Wissenschaft, danke ich für die dauernde Unterstützung, Herrn Garteninspektor Peitscher und Fräulein Herta Kellner, jetzt Frau Hanftmann, für ihre stete Hilfe.

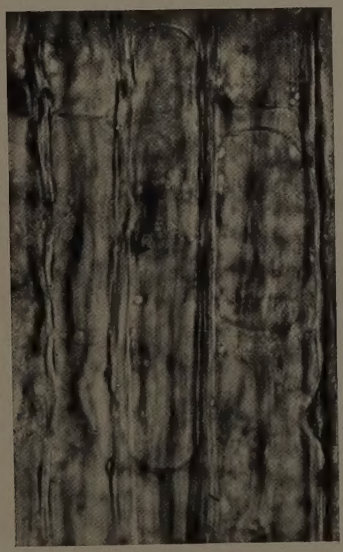
Druck von Ant. Kämpfe, Jena



1

2

3



4

Rouschal.

VERLAG VON GUSTAV FISCHER IN JENA.

Verlag von Gustav Fischer in Jena

Vegetationsbilder

Begründet von G. Karsten und H. Schenck

Herausgegeben von Prof. Dr. H. Walter, Stuttgart

25. Reihe:

Heft 1: **Rindenflechten der Alpen.** Von Dr. **Helmut Gams,** Innsbruck. 12 Vegetationsbilder auf 6 Lichtdrucktafeln, 6 S. Text und 6 Blatt Tafelerklärungen 4° 1936 RM 4.—

Heft 2: **Hochland und Hochgebirge von Yünnan und Südwest-Setschwan.** Von Dr. **Heinrich Handel-Mazzetti,** Wien. **III. Die kalttemperierte und Hochgebirgsstufe.** 6 Lichtdrucktafeln mit 9 Vegetationsbildern, 11 S. Text, 6 Blatt Tafelerklärungen und 4 Blatt Berichtigungen. 1937 RM 4.—

Heft 3: **Südwest-Alaska.** Von **Eric Hultén.** 10 Vegetationsbilder auf 6 Lichtdrucktafeln, 3 S. Text und 6 Blatt Tafelerklärungen. 1937 RM 4.—

Heft 4: **Vegetationsbilder aus dem Bertiscus. (Nordalbanische Alpen.)** Von **K. H. Rechinger,** Wien. 11 Vegetationsbilder auf 6 Lichtdrucktafeln, 8 S. Text und 6 Blatt Tafelerklärungen. 1938 RM 4.—

Heft 5: **Vegetationsbilder aus dem nördlichen Iran.** Von **K. H. Rechinger,** Wien. 12 Vegetationsbilder auf 6 Lichtdrucktafeln, 5 S. Text und 6 Blatt Tafelerklärungen. 1939 RM 4.—

Heft 6: **Neu-Caledonien.** Von **A. U. Däniker,** Küsnacht (Zürich). 12 Vegetationsbilder auf 6 Lichtdrucktafeln, 9 S. Text und 6 Blatt Tafelerklärungen. 1939 RM. 4.—

Heft 7: **Die Wasservegetation einiger Seen in Niederländisch-Indien.** Von **Franz Ruttner,** Lunz a. See. 11 Vegetationsbilder auf 6 Lichtdrucktafeln, 10 S. Text und 6 Blatt Tafelerklärungen. 1940 RM. 4.—

Heft 8: **Vegetationsbilder aus Zentralafrika und Angola.** Von Dozent Dr. **Reinhard Orth,** Heidelberg. 11 Vegetationsbilder auf 6 Lichtdrucktafeln, 19 S. Text und 6 Blatt Tafelerklärungen. 1940 RM 4.—

Der Evolutionsgedanke

in seiner heutigen Fassung

Von

Gertraud Haase-Bessel

Dresden

VI, 79 S. gr.8° 1941 RM 3.60

Das Tatsachenmaterial der Naturwissenschaften, vor allem das der Physik, Genetik und der Vorgeschichte, hat gegenwärtig ein solches Ausmaß erreicht, daß es gebieterisch zu einer Ordnung, zu einer Synthese, drängt. Dies gilt auch für die Entwicklungsgeschichte der Organismen, kurz für die „Evolution".

Nachdem auf die erste klassische Periode des Evolutionsgedankens in der 2. Hälfte des 19. Jahrhunderts eine gewisse „schöpferische Pause" eingetreten war, zeichnet sich auch hier eine Neuordnung der Gedankengänge ab, darüber hinaus sind — auf deren Boden — fruchtbare Arbeitshypothesen erwachsen, die manches, was wir wußten, in ein neues Licht stellen.

Es ist hier versucht worden, die Linien, die sich heute für die Evolution abzeichnen, zu einer kurzen Skizze zusammenzudrängen, die also im ganzen gewissermaßen ein Vorwort darstellt für künftige Veröffentlichungen auf breiterer Basis. Die Einstellung, die sich hier für den Evolutionsgedanken ergibt, ist biologisch, ohne damit aber einem Positivismus zu verfallen, denn es ist die Überzeugung der Verfasserin, daß man die andere Seite des physisch-psychischen Parallelismus, des Korrespondenzprinzips, eben auch sehen muß, um das Problem zu überschauen.

Da viele der Gedankengänge und Tatsachenkomplexe rund um die „Entwicklungslehre" heute recht weiten Kreisen der naturwissenschaftlich Interessierten kaum bekannt sind, soll die Schrift gleichzeitig auch weiteren Kreisen eine Darstellung des heutigen Standes des Evolutionsgedankens geben.

Stammesgeschichte als historische Naturwissenschaft

Von

Dr. **Carl Christoph Beringer**

München

40 S. gr.8° 1941 RM 2.40

Inhalt: Einleitung. / 1. Der Weg der Phylogenie von Haeckel bis Apel. 2. Der Durchbruch des historischen Denkens in der Stammesgeschichte. 3. Das Problem des Naturhistorischen. 4. Ergebnisse. / Schriftennachweis.

Der Verfasser kommt am Schluß seiner kleinen Studie über die Stammesgeschichte als historische Naturwissenschaft zusammenfassend zu dem Schluß, daß Naturgeschichte und insbesondere die Geschichte des Organischen sowohl nach der Methode wie nach dem Objekt echte Geschichte ist und damit in das Reich der „Welt der Geschichte" gehört.

Hieraus ergeben sich für Natur- und Geschichtsphilosophie bedeutsame Folgerungen. Künftig wird keine Geschichtsphilosophie übersehen dürfen, daß das organische Werden alle charakteristischen Merkmale eines typischen historischen Werdens in sich trägt, daß es also eine Weltgeschichte des Organischen gibt, die der Weltgeschichte der Völker und Kulturen vorangeht. Die Geschichte des Menschen ist erlebtes, gestaltetes Schicksal, die Geschichte der Organismen unbewußtes, widerfahrenes Geschick.